Leica Biosystems Special Stain Kit

English 2
العربية (Arabic) 6
简体中文 (Chinese Simplified) 10
中國傳統的 (Chinese Traditional) 14
Dansk (Danish) 18
Nederlands (Dutch) 22
Français (French – Canada) 27
Français (French – France) 32
Deutsch (German) 37
Italiano (Italian) 42
日本語 (Japanese) 47
한국어 (Korean) 51
Norsk (Norwegian) 56
Polski (Polish) 60
Português (Portuguese – Brazil) 65
Português (Portuguese – Portugal) 70
Română (Romanian) 75
Русский (Russian) 80
Slovenski (Slovenian) 85
Español (Spanish – Central America) 90
Español (Spanish – Spain) 95
Svensk (Swedish) 100
ไทย (Thai) 105
Türk (Turkish) 110
Tiếng Việt (Vietnamese) 115

Special Stain Kit
Modified Grocott's Methenamine Silver Stain

REF 38016SS12

Product Name

Modified Grocott's Methenamine Silver Stain (GMS) Special Stain Kit.

Intended Use

Detection/Measurement

Modified Grocott's Methenamine Silver Stain (GMS) Kit does not detect or measure an analyte or marker.

The Modified Grocott's Methenamine Silver Stain when used with appropriate histological protocols may be used for the demonstration of defined fungi and infectious agents such as *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii, and Cryptococcus neoformans* in formalin fixed, paraffin embedded tissue sections.

Product Function

The results obtained through use of GMS Special Stain Kit do not provide objective medical evidence. The coloration and contrast the Leica Biosystems GMS Special Stain Kit provide to histologic specimens allows visualization of microscopic anatomy. This visualization, when interpreted by a trained professional, is utilized alongside other information such as the patient's medical history, physical condition, as well as results from other medical testing to render a medical diagnosis.

Specific Information Provided

The Leica Biosystems GMS Kit is not intended for the detection, definition or differentiation of a specific disorder, condition, or risk factor. The staining demonstrated with use of these products, when used as intended, provides trained professionals information which may define the physiological or pathological state of the tissue specimen.

Automation

GMS Special Stain Kit is not automated but can be used on automated staining platforms. Use on an automated platform should be validated at the point of use.

Qualitative/Quantitative

The Leica Biosystems GMS Special Stain Kit is qualitative stain.

Specimen Type

GMS Special Stain Kit can be used with any paraffin embedded human or animal specimen.

Testing Population

The Leica Biosystems GMS Kit is intended for use with any patient requiring evaluation of biopsy or resection tissue for the assessment of a suspected pathology or disease.

Intended User

GMS Special Stain Kit is intended for use by qualified laboratory personnel and/or designee of the laboratory.

***In Vitro* Diagnostic**

GMS Kit is intended for *in vitro* diagnostics use only.

Test Principle

The mechanism of action of Modified Grocott's Methenamine Silver Stain is based upon the capacity of aldehyde groups to reduce cationic silver (Ag+) to metallic silver. Chromic acid is used to generate aldehyde groups by the oxidation of 1-2 glycol groups within polysaccharide rich tissue components, e.g. glycogen, mucin, reticulin and fungal cell walls. When cationic silver is added to the section in the form of a methenamine-silver ion complex, the aldehyde groups reduce the silver ions to metallic silver. Sections are subsequently toned with Gold Chloride Solution to produce metallic gold which is more stable than metallic silver and produces superior contrast and clarity.

Because of the strong oxidizing potential of the Modified Chromic Acid Solution, many of the resultant aldehyde groups are further oxidized to carboxylic acid groups which are incapable of reducing silver. This capacity of the Modified Chromic Acid Solution has the advantage of reducing background reactions of collagen and basement membranes, and produces a strong impregnation with silver in only those structures that possess high levels of the reactive polysaccharide groups e.g. glycogen, mucin and fungal cell walls.

Calibrators & Controls

GMS Kit does not require the use of any calibrators or controls.

Reagent Limitations

No reagent limitations are applicable to this product.

Applicable Products

Product Code	Material Description
38016SS12	Modified Grocott's Methenamine Silver Stain (GMS) Special Stain Kit
38016SS12A	Modified Chromic Acid Solution, 500 mL
38016SS12B	Sodium Bisulfite Solution, 500 mL
38016SS12C	Silver Nitrate Solution, 250 mL

Special Stain Kit
Modified Grocott's Methenamine Silver Stain

REF 38016SS12

38016SS12D	Methenamine/Borax Solution, 250 mL (A)
38016SS12E	Gold Chloride Solution, 500 mL
38016SS12F	Sodium Thiosulfate Solution, 500 mL
38016SS12G	Light Green SF, 500 mL

Note: (A). The refrigerated Methenamine/Borax Solution (Item No. 38016SS12D, 250 mL) is not included in the GMS Kit. Item must be ordered separately and will be shipped separately.

Materials Not Included

GMS Special Stain Kit protocol requires the use of graded alcohols, xylene, or xylene substitutes, deionized or distilled water. Positive control slide(s) with tissue known to contain fungal elements (not included in this kit), should be included in each run.

Devices Required

Leica Biosystems GMS Special Stain Kit can be used on any automated staining platform or with a manual staining method.

Storage and Stability

The Methenamine/Borax Solution should be stored at 2–8 °C (36–46 °F). Store other components at room temperature 15–30 °C (59–86 °F).

CAUTION: Do not use after the expiration date.

In Use Stability

User discretion should be utilized when determining in-use stability.

Sterility

GMS Special Stain Kit components are not sterile products.

Warnings/Precautions

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations. Refer to Material Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard, or safety
Information.

Infectious Material Status

GMS Special Stain Kit does not include any infectious material. However, specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions per facility guidelines.

Special Facilities

GMS Special Stain Kit should be used per facility guidelines.

Specimen Handling

Suggested fixatives include 10% neutral buffered formalin. Routine dehydration, clearing, and paraffin infiltration and embedding,
and routine preparation of microtome sections. Poor fixation, processing, rehydration, and sectioning will adversely affect the staining quality. Following processing and paraffin embedding, cut sections at 4–6 microns.

Preparation for Use

Prior to staining, place 20 mL of the Methenamine/Borax Solution and 20 mL of the Silver Nitrate Solution into separate acid cleaned beakers. Heat the solutions to 50–55 °C and just prior to silver impregnation combine the two solutions in an acid washed Coplin jar.

Notes:

- Solutions may be heated using a water bath or laboratory oven. Avoid over-heating as break-down of Methenamine is accelerated at temperatures above 50 °C.
- Preheat a second Coplin jar with 40 mL of deionized or distilled water to 50–55 °C to be used as a rinse.

Direction for Use

Conventional Staining Protocol

1. Deparaffinize tissue sections with xylene and rehydrate through graded alcohols to deionized or distilled water.
2. Place slides in Modified Chromic Acid Solution for 5 –10 minutes at room temperature.
   Please note: Exercise caution when handling the Modified Chromic Acid Solution.
3. Rinse slides in two changes of tap water.
4. Rinse slides in two changes of deionized or distilled water.
5. Place slides in Sodium Bisulfite Solution for 1 minute.
6. Rinse slides in running tap water for 30 seconds.

7. Rinse slides in two changes of deionized or distilled water.
8. Combine the prewarmed Silver Nitrate Solution and Methenamine/Borax Solution into a prewarmed acid cleaned Coplin jar.
9. Place slides in the Methenamine/Borax-Silver Nitrate Solution and incubate for 20–45 minutes at 50–55 °C. After 15–20 minutes, using non-metallic forceps, remove a control slide, dip in the prewarmed deionized water to rinse, and check microscopically for the completeness of silver deposition.
10. Rinse slides in 6 changes of deionized or distilled water.
11. Place slides in Gold Chloride Solution for 5 minutes.
12. Rinse slides in 3 changes of deionized or distilled or distilled water.
13. Place slides in Sodium Thiosulfate Solution for 2 minutes.
14. Rinse slides thoroughly in running tap water for 2 minutes.
15. Place slides in Light Green SF for 40 seconds.
16. Rinse slides briefly in deionized or distilled water.
17. Dehydrate slides in three changes of absolute alcohol.
18. Clear slides in two changes of xylene and mount in a xylene miscible medium.

Table 1. Example of Conventional GMS Special Stain Kit Staining Protocol.

Steps	Action	Chemical	Time (mm:ss)
1-3	Deparaffinize	Xylene	3:00
4-5	Hydration	100% Alcohol	2:00
6	Hydration	80% or 95% Alcohol	1:00
7	Hydration	Deionized Water	1:00
8	Stain	Modified Chromic Acid Solution	5:00-10:00
9-10	Wash	Tap Water	0:30
11-12	Rinse	Deionized Water	0:10
13	Neutralize	Sodium Bisulfite Solution	1:00
14	Rinse	Running Tap Water	0:30
15-16	Rinse	Deionized Water	0:10
17	Stain/Impregnate	Methenamine/Borax-Silver Nitrate Solution	20:00-45:00 @ 50–55 °C
18-23	Rinse	Deionized Water	0:10
24	Dehydration	Gold Chloride Solution	5:00
25-27	Rinse	Deionized Water	0:10
28	Stain	Sodium Thiosulfate Solution	2:00
29	Rinse	Running Tap Water	2:00
30	Counterstain	Light Green SF	0:40
31	Rinse	Deionized Water	0:30
32-34	Dehydration	100% Alcohol	2:00
35-36	Clearing	Xylene	2:00

Note: When using xylene substitute, increase immersion times by approximately 50%.

Microwave Staining Protocol

Exercise caution when using the microwave to heat any solution or reagent. The microwave must be properly ventilated to prevent the accumulation of fumes in the laboratory. Microwave transparent coplin jars and caps should be used during the staining process. The caps should be loosely applied to prevent spills. Caps with ventilation holes also may be used. All microwaves should be used in accordance with the manufacturer's instructions.

1. Deparaffinize tissue sections with xylene and rehydrate through graded alcohols to deionized or distilled water.
2. Place slides in the Modified Chromic Acid Solution and microwave at 800 watts for 10 seconds.
   Please note: Exercise caution when handling the Modified Chromic Acid Solution.
3. Gently mix by swirling the Coplin jar and allow to stand for 1 minute.
4. Rinse slides in 6 changes of deionized or distilled water.
5. Place slides in Sodium Bisulfite Solution for 1 minute.

6. Rinse slides in 6 changes of deionized or distilled water.
7. Combine 20 mL of the Silver Nitrate Solution and 20 mL of the Methenamine/Borax Solution in an acid cleaned plastic Coplin jar.
8. Place slides in the solution and microwave at 600 watts for 45–50 seconds.
9. Gently mix by swirling the Coplin jar and allow to stand for 2 minutes.
10. Microwave solution for 10 seconds at 600 watts.
11. Gently agitate solution and using non-metallic forceps remove a control slide, dip in prewarmed deionized water to rinse and check microscopically for the completeness of silver impregnation. If necessary replace slides in the warm Methenamine/Borax Silver Nitrate Solution and swirl for 10–30 seconds.
12. If necessary, repeat steps 10 and 11 until a satisfactory level of silver deposition is observed.
13. Rinse slides in 6 changes of deionized or distilled water.
14. Place slides in Gold Chloride Solution for 5 minutes.
15. Rinse slides in 3 changes of deionized or distilled water.
16. Place slides in Sodium Thiosulfate Solution for 2 minutes.
17. Rinse slides thoroughly in running tap water for 2 minutes.
18. Place slides in Light Green SF for 40 seconds.
19. Rinse slides briefly in deionized or distilled water.
20. Dehydrate slides in 3 changes of absolute alcohol.
21. Clear slides in 2 changes of xylene and mount in a xylene miscible medium.

Readiness for Use

Once appropriate staining protocol is chosen and bath-layout is created, pour all the reagent into the reagent vessel. Place the reagent vessel back into the respective station.

Quality Control

A quality control slide(s) with tissue known to contain fungal elements, fixed and processed in a similar manner to the test specimens should be included in each staining assay to ensure GMS Special Stain Kit is performing as intended.

Expected Results

- Fungi – sharply delineated black
- Inner parts of mycelia and hypha – taupe to old rose
- Mucin – taupe to dark grey
- Background – green

Analytical Performance

The Leica Biosystems Modified Grocott's Methenamine Silver Stain Kits are not used to detect a specific analyte or marker. These products are used for demonstration of defined fungi and infectious agents such as *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii and Cryptococcus neoformans* in formalin fixed, paraffin embedded tissue sections. Analytical parameters such as analytical sensitivity, analytical specificity, trueness (bias), precision (repeatability and reproducibility), accuracy (resulting from trueness and precision), limits of detection and quantitation, measuring range, linearity, cut-off, including determination of appropriate criteria for specimen collection and handling and control of known relevant endogenous and exogenous interference, cross-reactions do not apply to the performance of this system.

Clinical Performance

The Leica Biosystems Modified Grocott's Methenamine Silver Stain Kits are not intended for use as a means of detecting a specific disease or pathological process or state. Clinical performance indices such as diagnostic sensitivity, diagnostic specificity, positive predictive value, negative predictive value, likelihood ratio as well as expected values in normal and affected populations do not apply to the use of the Leica Biosystems Bluing Agents in a clinical setting.

Disposal

Spent or expired components of the GMS Special Stain Kit should be discarded in accordance with organizational, local, state, and federal regulations.

Leica Biosystems Richmond, Inc.
5205 Route 12
Richmond, IL 60071
USA
(1-844-534-2262)

LeicaBiosystems.com

IVD CE

EC REP CEpartner4U
Esdoornlaan 13
3951 DB Maarn
The Netherlands
cepartner4u.eu

Issue Date: 06/2021, Rev A • IFU-013
Basic UDI-DI: 849832071V4

طقم صباغة خاصة
صبغة الفضة ميثينامين لـ Grocott المعدّلة

38016SS12 REF

اسم المنتج

صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة **(GMS)** طقم صباغة خاصة.

الاستخدام المستهدف

الاكتشاف/القياس

لا تُستخدم صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة **(GMS)** في الكشف عن مادة يُراد تحليلها أو علامة استدلالية أو قياسهما.

عند استخدام صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة مع البروتوكولات النسيجية المناسبة فإنها قد تُستخدم بغرض توضيح الفطريات والعوامل المُعدية التي تم التعرّف عليها مثل *أنواع الرَّشَّاشِيَّة* ***Aspergillus sp.*** *والمُتَكَيِّسَةُ الرِّئَوِيَّةُ الجُؤْجُؤِيَّة* ***Pneumocystis carinii*** *والمُسْتَخْفِيَةُ المورِمَة* ***Cryptococcus neoformans*** في قطاعات نسيجية مثبتة بالفورمالين ومطمورة في البارافين.

وظيفة المنتج

النتائج التي يتم الوصول إليها باستخدام طقم الصباغة الخاصة **GMS** لا توفر دليلاً طبيًا موضوعيًا. التلوين والتباين اللذين يمنحهما طقم الصباغة الخاصة **GMS** لـ **Leica Biosystems** للعينات النسيجية يسمحان بإظهار وتصوّر التشريح المجهري. يُستخدم هذا التصور، عند تفسيره من قِبل أحد الاختصاصيين المدربين، جنبًا إلى جنب مع معلومات أخرى مثل التاريخ الطبي للمريض، والحالة البدنية، وكذلك نتائج الاختبارات الطبية الأخرى لتقديم تشخيص طبي.

المعلومات المحددة المقدّمة

إنّ طقم **GMS** لـ **Leica Biosystems** غير مُعدّ للكشف عن اضطراب أو حالة مرضية أو عامل خطورة محدد أو تعريف أو تمييز أيٍ منها. توفر الصباغة الموضحة، عند استخدام هذه المنتجات وفقًا للهدف، معلومات للاختصاصيين المدربين والتي قد تحدد الحالة الفسيولوجية أو المرضية للعينة النسيجية.

الأتمتة

طقم الصباغة الخاصة **GMS** غير مؤتمت، لكن يمكن استخدامه على أنظمة صباغة مؤتمتة. الاستخدام على نظام مؤتمت يجب أن يخضع لإثبات الصلاحية في موقع الاستخدام.

وصفي/كيفي

طقم الصباغة الخاصة **GMS** لـ **Leica Biosystems** يعتبر صبغة وصفية (تصف النوع ولا تحدد الكمية).

نوع العينات

يمكن استخدام طقم الصباغة الخاصة **GMS** مع أي عينة بشرية أو حيوانية مطمورة في البارافين.

الفئات المستهدفة من الاختبار

طقم **GMS** لـ **Leica Biosystems** مُعدّ للاستخدام مع أي مريض يحتاج لتقييم خزعة أو نسيج مُستأصَل بغرض تقييم مرض أو باثولوجي مشتَبَه فيه.

المستخدِم المستهدف

إنّ طقم الصباغة الخاصة **GMS** مخصص للاستخدام من قِبل موظفي المختبر المؤهلين و/أو الشخص المكلف في المختبر.

التشخيص *المختبري*

طقم **GMS** مخصص للتشخيصات *المختبرية* فقط.

مبدأ الاختبار

تعتمد آلية عمل صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة على قدرة مجموعات الألدهيد على اختزال الفضة الكاتيونية **(+Ag)** إلى فضة معدنية. يُستخدم حمض الكروميك لتوليد مجموعات الألدهيد من خلال أكسدة **2-1** مجموعات جلايكول الموجودة في المكونات النسيجية الغنية بالمركبات عديدة السكريد، مثل الجلايكوجين والميوسين والريتيكولين والجدران الخلوية للفطريات. عندما تُضاف الفضة الكاتيونية إلى القطاع في صورة المعقد الأيوني ميثينامين-فضة، فإنّ مجموعات الألدهيد تختزل أيونات الفضة لتحولها إلى فضة معدنية. عقب ذلك تُطلى بمحلول كلوريد الذهب لإنتاج الذهب المعدني الذي يكون أكثر ثباتًا من الفضة المعدنية ولإحداث تباين ووضوح فائقين.

نظرًا للقدرة المُؤَكْسِدة القوية لمحلول حمض الكروميك المُعَدَّل، فإنّ العديد من مجموعات الألدهيد الناتجة تخضع لمزيد من التأكسد متحولة إلى مجموعات حمض كربوكسيليك غير قادرة على اختزال الفضة. يتمتع محلول حمض الكروميك المُعَدَّل بقدرة مميزة في اختزال تفاعلات الخلفية للكولاجين والأغشية القاعدية، كما تُحدث تشربًا قويًا بالفضة فقط في تلك التركيبات التي تمتلك مستويات مرتفعة من مجموعات عديدة السكاريد التفاعلية مثل، الكولاجين والميوسين والجدران الخلوية للفطريات.

المعايرات والكواشف الضابطة

لا يتطلب طقم **GMS** استخدام أي مُعايرات أو كواشف ضابطة.

حدود المادة الكاشفة

لا تنطبق حدود المادة الكاشفة على هذا المنتج.

المنتجات القابلة للاستخدام

كود المنتج	وصف المادة
38016SS12	صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة **(GMS)** طقم صباغة خاصة
38016SS12A	محلول حمض كروميك مُعَدَّل، بحجم **500** مل
38016SS12B	محلول بيسلفايت صوديوم، بحجم **500** مل
38016SS12C	محلول نِترات الفضة، بحجم **250** مل
38016SS12D	محلول ميثينامين/بوراكس، بحجم **250** مل (أ)
38016SS12E	محلول كلوريد الذهب، بحجم **500** مل
38016SS12F	محلول ثيوسلفات الصوديوم، بحجم **500** مل
38016SS12G	**SF** الأخضر الفاتح، بحجم **500** مل

طقم صباغة خاصة
صبغة الفضة ميثينامين لـ Grocott المعدّلة

38016SS12 REF

ملاحظة: (أ). محلول ميثينامين/بوراكس المُبرَد (رقم العنصر 38016SS12D، بحجم 250 مل) غير مشمول في طقم GMS.
يجب طلبه على حدة وسوف يُشحن على حدة.

المواد غير المشمولة
يتطلب بروتوكول طقم الصباغة الخاصة **GMS** استخدام كحولات بتركيزات متدرجة، أو زايلين، أو بدائل الزايلين، أو ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر. الشريحة (الشرائح) الضابطة الإيجابية التي تحتوي على مكونات فُطْريّة (غير مشمولة في هذا الطقم)، يجب أن تُدرج في كل تشغيل.

الأجهزة المطلوبة
يمكن استخدام طقم الصباغة الخاصة **GMS** لـ **Leica Biosystems** على أي نظام تلوين مؤتمت أو باستخدام طريقة صباغة يدوية.

التخزين والثبات
يجب تخزين محلول ميثينامين/بوراكس عند **2-8** درجة مئوية (**36-46** فهرنهايت). خزّن المكونات الأخرى عند درجة حرارة الغرفة **15-30** درجة مئوية (**59-86** فهرنهايت).
تنبيه: يُحظر الاستعمال بعد انتهاء تاريخ الصلاحية.

الثبات قيد الاستخدام
يجب أن يكون تعيين الثبات قيد الاستخدام وفقًا لما يراه المستخدم.

التعقيم
مكونات طقم الصباغة الخاصة **GMS** ليست منتجات معقمة.

تحذيرات/احتياطات
يجب اتباع الاحتياطات العادية التي تتم في التعامل مع المواد الكاشفة المعملية. تخلص من النفايات وفقًا لكل اللوائح المحلية أو لوائح الولاية أو اللوائح الإقليمية أو الوطنية.
ارجع إلى استمارة بيانات سلامة المواد وملصق المنتج للتعرف على أحدث معلومات المخاطر أو الأخطار أو السلامة.

حالة المواد المسببة للعدوى
لا يشمل طقم الصباغة الخاصة **GMS** أية مواد معدية. ومع ذلك، ينبغي التعامل مع العينات، قبل وبعد التثبيت، وجميع المواد التي تتعرض لها، كما لو كانت قادرة على نقل العدوى والتخلص منها وفقًا للاحتياطات المناسبة بحسب إرشادات كل مرفق.

المرافق الخاصة
يجب استخدام طقم الصباغة الخاصة **GMS** بحسب الدلائل الإرشادية للمرفق.

التعامل مع العينات
تحتوي المُثبّتات على **10%** فورمالين مُنَظَّم مُتعادل. الخطوات العادية للتجفيف والترويق والتشبّع والطمر بالبارافين وكذلك التحضير المُعتاد لقطاعات الميكروتوم (جهاز تقطيع الشرائح الدقيقة). سوء التثبيت والمعالجة وإعادة ترطيب العينات والتقطيع سوف ينعكس بالسلب على جودة الصبغ. بعد المعالجة والطمر في البارافين، قم بتقطيع القطاعات عند **4-6** ميكرونات.

الإعداد للاستخدام
قبل البدء في الصباغ، ضع **20** مل من محلول ميثينامين/بوراكس و **20** مل من محلول نِترات الفضة في دوارق (كؤوس) منظفة بحمض. قم بتسخين المحاليل حتى **50-55** درجة مئوية وقبل التشريب بالفضة مباشرة اخلط المحلولين في مرطبان **Coplin** مغسول بحمض.

ملاحظات:
- يُمكن تسخين المحاليل باستخدام حمام مائي أو في فرن المختبر. تجنّب التسخين الزائد لأنّ تكسير الميثينامين يحدث سريعًا عند درجات الحرارة التي تزيد عن **50** درجة مئوية.
- قم بعمل تسخين مُسبق لمرطبان **Coplin** ثانٍ به **40** مل من ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر حتى **50-55** درجة مئوية لاستخدامه في الشطف.

توجيهات الاستخدام

بروتوكول الصباغة التقليدي

1. قم بإزالة البارافين من القطاعات النسيجية باستخدام زايلين ثم أعِد الإرواء مستخدمًا كحولات بتركيزات متدرجة ثم في ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر.
2. ضع الشرائح في محلول حمض كروميك مُعَدَّل لمدة **5-10** دقائق في درجة حرارة الغرفة.
   ملحوظة مهمة: توخى الحذر عن التعامل مع محلول حمض الكروميك المُعَدَّل.
3. اشطف الشرائح في تغييرين من ماء الصنبور.
4. اشطف الشرائح في تغييرين من ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر.
5. ضع الشرائح في محلول بيسلفايت الصوديوم لمدة **1** دقيقة.
6. اشطف الشرائح بماء صنبورٍ جارٍ لمدة **30** ثانية.
7. اشطف الشرائح في تغييرين من ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر.
8. اخلط محلول نِترات الفضة المُسَخَّن مُسبقًا ومحلول ميثينامين/بوراكس في مرطبان **Coplin** مُنظَّف بحمض ومُسَخَّن مُسبقًا.
9. ضع الشرائح في محلول ميثينامين/بوراكس-نِترات الفضة واتركهم في الحضانة لمدة **20-45** دقيقة عند **50-55** درجة مئوية. بعد **15-20** دقيقية، وباستخدام ملقط غير معدني، قم بإزالة شريحة ضابطة، اغمسها في ماء منزوع الأيونات مُسَخَّن مُسبقًا لشطفها، وافحصها مجهريًا للتحقق من اكتمال ترسُّب الفضة.
10. اشطف الشرائح في **6** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر.
11. ضع الشرائح في محلول كلوريد الذهب لمدة **5** دقائق.
12. اشطف الشرائح في **3** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقطَّر.
13. ضع الشرائح في محلول ثيوسلفات الصوديوم لمدة **2** دقائق.

طقم صباغة خاصة
صبغة الفضة ميثينامين لـ Grocott المعدّلة

38016SS12 REF

14. اشطف الشرائح شطفًا شاملًا بماء الصنبور الجاري لمدة **2** دقائق.
15. ضع الشرائح في **SF** الأخضر الفاتح لمدة **40** ثانية.
16. اشطف الشرائح في ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
17. قم بعمل إنكاز (إزالة الماء) من الشرائح في ثلاثة تغييرات من كحول مطلق.
18. قم بترويق الشرائح في تغييرين من الزايلين وقم بعمل تحميل في وسط قابل للامتزاج مع الزايلين.

جدول **1**. مثال لبروتوكول صباغة تقليدي باستخدام طقم الصباغة الخاصة **GMS**.

الخطوات	الإجراء	المادة الكيميائية	الوقت (د:ث ث)
3-1	إزالة البارافين	زايلين	**3:00**
5-4	إرواء	كحول **100**%	**2:00**
6	إرواء	كحول **80**% أو **95**%	**1:00**
7	إرواء	ماء منزوع الأيونات	**1:00**
8	صبغ	محلول حمض كروميك مُعَدَّل	**5:00 - 10:00**
10-9	غسل	ماء صنبور	**0:30**
12-11	شطف	ماء منزوع الأيونات	**0:10**
13	تعادل	محلول بيسلفايت صوديوم	**1:00**
14	شطف	ماء صنبورٍ جارٍ	**0:30**
16-15	شطف	ماء منزوع الأيونات	**0:10**
17	صباغة/تشريب	محلول ميثينامين/بوراكس-نِترات الفضة	**20:00 - 45:00 @ 50-55** درجة مئوية
23-18	شطف	ماء منزوع الأيونات	**0:10**
24	إنكاز (إزالة الماء)	محلول كلوريد الذهب	**5:00**
27-25	شطف	ماء منزوع الأيونات	**0:10**
28	صبغ	محلول ثيوسلفات الصوديوم	**2:00**
29	شطف	ماء صنبورٍ جارٍ	**2:00**
30	صبغ مُباين	**SF** الأخضر الفاتح	**0:40**
31	شطف	ماء منزوع الأيونات	**0:30**
34-32	إنكاز (إزالة الماء)	كحول **100**%	**2:00**
36-35	ترويق	زايلين	**2:00**

ملاحظة: عند استخدام بديل زيلين، قم بزيادة أوقات الغمر بمعدل **50**% تقريبًا.

بروتوكول تلوين المايكروويف

توخَّ الحذر عند استخدام المايكروويف لتسخين أي محلول أو مادة كاشفة. يجب تهوية المايكروويف بشكل صحيح لمنع تراكم الأدخنة في المعمل. يجب استخدام أوعية وأغطية **Coplin** الشفافة للمايكروويف أثناء عملية التلوين. يجب وضع الأغطية دون إحكام ربطها لمنع التسربات. يمكن أيضًا استخدام الأغطية ذات فتحات التهوية. يجب استخدام كل أجهزة المايكروويف طبقًا لتعليمات جهة التصنيع.

1. قم بإزالة البارافين من القطاعات النسيجية باستخدام زايلين ثم أعِد الإرواء مستخدمًا كحولات بتركيزات متدرجة ثم في ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
2. ضع الشرائح في محلول حمض كروميك مُعَدَّل ثم ضعهم في المايكروويف عند **800** وات لمدة **10** ثوان.
   ملحوظة مهمة: توخى الحذر عند التعامل مع محلول حمض الكروميك المُعَدَّل.
3. امزج المحلول بلطف من خلال التقليب بحركة دوامية لمرطبان **Coplin** واتركه لمدة **1** دقيقة.
4. اشطف الشرائح في **6** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
5. ضع الشرائح في محلول بيسلفايت الصوديوم لمدة **1** دقيقة.
6. اشطف الشرائح في **6** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
7. اخلط **20** مل من محلول نِترات الفضة مع **20** مل من محلول ميثينامين/بوراكس في مرطبان **Coplin** بلاستيكي مُنَظَّف بحمض.
8. ضع الشرائح في المحلول ثم ضعهم في المايكروويف عند **600** وات لمدة **45-50** ثانية.
9. امزج المحلول بلطف من خلال التقليب بحركة دوامية لمرطبان **Coplin** واتركه لمدة **2** دقائق.
10. ضع المحلول في المايكروويف لمدة **10** ثوانٍ عند **600** وات.
11. حرّك المحلول بلطف وقم بإزالة الشريحة الضابطة باستخدام ملقط غير معدني، اغمسها في ماء منزوع الأيونات مُسَخَّن مُسبقًا لشطفها، وافحصها مجهريًا للتحقق من اكتمال التشريب بالفضة. إذا استدعى الأمر أعد وضع الشرائح في محلول ميثينامين/بوراكس-نِترات الفضة دافيء وقلب بحركة دوامية لمدة **10-30** ثانية.

طقم صباغة خاصة
صبغة الفضة ميثينامين لـ Grocott المعدّلة

38016SS12 REF

12. عند الضرورة، كرّر الخطوات **10** و **11** حتى تلحظ حدوث مستوىً مُرضٍ من ترسُّب الفضة.
13. اشطف الشرائح في **6** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
14. ضع الشرائح في محلول كلوريد الذهب لمدة **5** دقائق.
15. اشطف الشرائح في **3** تغييرات من ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
16. ضع الشرائح في محلول ثيوسلفات الصوديوم لمدة **2** دقائق.
17. اشطف الشرائح شطفًا شاملًا بماء الصنبور الجاري لمدة **2** دقائق.
18. ضع الشرائح في **SF** الأخضر الفاتح لمدة **40** ثانية.
19. اشطف الشرائح في ماء منزوع الأيونات أو مُقَطَّر.
20. قم بعمل إنكاز (إزالة الماء) من الشرائح في **3** تغييرات من كحول مطلق.
21. قم بترويق الشرائح في **2** تغييرات من الزايلين وقم بعمل تحميل في وسط قابل للامتزاج مع الزايلين.

الجاهزية للاستخدام

بمجرد اختيار بروتوكول الصباغة المناسب وتصميم مخطط المغطس، أُسكُب كل المادة الكاشفة في وعاء المادة الكاشفة. ضع وعاء المادة الكاشفة مرةً أخرى في المحطة المعنية.

ضبط الجودة

يجب إدراج شريحة (شرائح) ضابطة للجودة لأنسجة معروف احتوائها على عناصر فُطرية، والتي تم تثبيتها ومعالجتها بطريقة مشابهة لعينات الاختبار، في كل اختبار صباغة للتأكد من أنّ طقم الصباغة الخاصة **GMS** يعمل كما ينبغي.

النتائج المتوقعة

- الفطريات – سوداء بحدود واضحة
- الأجزاء الداخلية للغزل الفطري والخيوط الفطرية – رمادية مائل إلى البني إلى ظلال متنوعة من الرمادي للأرجواني الأحمر
- الميوسين – من رمادي مائل إلي البني إلى رمادي داكن
- الخلفية – خضراء

الأداء التحليلي

لا تُستخدم صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة الخاصة بـ **Leica Biosystems** للكشف تحديدًا عن مادة يُراد تحليلها أو علامة استدلالية. هذه المنتجات تُستخدم بغرض توضيح الفطريات والعوامل المُعدية التي تم التعرّف عليها مثل *أنواع الرَّشَّاشِيَّة* ***Aspergillus sp.*** *والمُتَكَيِّسَةُ الرِّئَوِيَّةُ الجُؤجُؤِيَّة* ***Pneumocystis carinii*** *والمُسْتَخْفِيَةُ المورِمَة* ***Cryptococcus neoformans*** في قطاعات نسيجية مثبتة بالفورمالين، ومطمورة في البارافين. تجدر الإشارة إلى أنّ المعلّمات التحليلية - مثل الحساسية التحليلية، والنوعية التحليلية، والمطابقة (التَحَيُّز)، والإحكام (التكرار وقابلية الاستنساخ)، والدقة (الناتجة عن المطابقة والإحكام)، وحدود الكشف والكمية، ومدى القياس، والخطية، والحد الأقصى، بما في ذلك تحديد المعايير المناسبة بالنسبة لجمع العينات والتعامل معها والتحكم في التداخل الداخلي والخارجي المعروف ذي الصلة، وكذلك التفاعلات الخلطية - لا تنطبق على أداء هذا النظام.

الأداء السريري

لم تُعدّ أطقُم صبغة الفضة ميثينامين لـ **Grocott** المعدّلة الخاصة بـ **Leica Biosystems** بغرض الاستخدام كوسائل للكشف عن مرض محدد أو حالة أو عملية باثولوجية محددة. لا تنطبق مؤشرات الأداء السريري -مثل الحساسية التشخيصية، ونوعية التشخيص، والقيمة التنبؤية الإيجابية، والقيمة التنبؤية السلبية، ونسبة الاحتمال، بالإضافة إلى القيم المتوقعة في فئات السكّان العاديين والمتضررين- على استخدام عوامل التلوين بالأزرق من **Leica Biosystems** في بيئة سريرية.

التخلص من المنتج

يجب التخلص من مكونات طقم الصباغة الخاصة **GMS** المستعملة أو منتهية الصلاحية وفقًا للتشريعات التنظيمية والمحلية والفيدرالية وتشريعات الولاية.

特殊染色试剂盒
改良 Grocott 六亚甲基四胺银染色剂

REF 38016SS12

产品名称

改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色剂 **(GMS)** 特殊染色试剂盒。

预期用途

检测/测量

改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色剂 **(GMS)** 试剂盒无法检测或测量分析物或标记物。

改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色剂与相应的组织染色方案一起使用时，可用于在福尔马林固定的石蜡包埋组织切片中显示定义的真菌和传染性病原体，比如*曲霉属菌*、*卡氏肺孢子虫和新型隐球菌*。

产品功能

使用 **GMS** 特殊染色试剂盒获得的结果并不能提供客观的医学证据。**Leica Biosystems GMS** 染色试剂盒为组织学标本提供的颜色和对比可为显微解剖实现可视化。当由受过培训的专业人员进行解释时，该可视化将与其他信息（例如患者的病史、身体状况以及其他医学测试的结果）一起用于医疗诊断。

提供特定信息

Leica Biosystems GMS 试剂盒不适用于检测、定义或区分特定疾病、状况或危险因素。当按预期使用这些产品时显示的染色可为受过训练的专业人员提供信息，这些信息可能会定义组织标本的生理或病理状态。

自动化

GMS 特殊染色试剂盒不是自动化的，但可在自动化染色平台上使用。在自动化平台上的使用应在使用地点进行验证。

定性/定量

Leica Biosystems GMS 特殊染色试剂盒为定性染色剂。

标本类型

GMS 特殊染色试剂盒可用于任何石蜡包埋的人或动物标本。

测试群体

Leica Biosystems GMS 试剂盒适用于需要对活检组织或切除组织进行评估的任何患者，以评估可疑病理或疾病。

目标用户

GMS 特殊染色试剂盒适合合格的实验室人员和/或实验室指定人员使用。

***体外*诊断**

GMS 试剂盒仅适用于*体外*诊断。

测试原理

改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色剂的作用机制建立在醛基将银阳离子 **(Ag+)** 还原为金属银的能力之上。铬酸的作用是通过氧化富含多糖的组织成分（如糖原、粘蛋白、网状蛋白和真菌细胞壁）中的 **1-2** 个糖基来产生醛基。当银阳离子以六亚甲基四胺银离子络合物的形式加入切片时，醛基将银离子还原为金属银。然后用氯化金溶液对切片进行调色，产生比金属银更稳定的金属金，这种金属可产生出色的对比度和清晰度。

由于改良铬酸溶液的强氧化性，所产生的许多醛基被进一步氧化为无法还原银的羧酸基。改良铬酸溶液的这种能力具有减缓胶原与基底膜背景反应的优点，并且只在拥有高含量反应性多糖基团的结构（比如糖原、粘蛋白和真菌细胞壁）中产生强烈的浸银染色。

校准品和对照品

GMS 试剂盒不需要使用任何校准品或对照品。

试剂限制

本产品没有试剂限制。

适用产品

产品代码	材料说明
38016SS12	改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色 **(GMS)** 特殊染色试剂盒
38016SS12A	改良铬酸溶液，**500 ml**
38016SS12B	亚硫酸氢钠溶液，**500 ml**
38016SS12C	硝酸银溶液，**250 ml**
38016SS12D	六亚甲基四胺/硼砂溶液，**250 ml (A)**
38016SS12E	氯化金溶液，**500 ml**
38016SS12F	硫代硫酸钠溶液，**500 ml**
38016SS12G	亮绿 **SF**，**500 ml**

注：(A). 本 GMS 试剂盒不含冷藏的六亚甲基四胺/硼砂溶液（项目号 38016SS12D，250 ml）。
项目必须单独订购，并独立发货。

特殊染色试剂盒
改良 Grocott 六亚甲基四胺银染色剂

REF 38016SS12

未包括的材料

GMS 特殊染色试剂盒操作规程需要使用分级酒精、二甲苯或二甲苯替代品、去离子水或蒸馏水。每次运行均应包括已知含有真菌元素的组织的阳性对照载玻片（本试剂盒未提供）。

需要的器械

Leica Biosystems GMS 特殊染色试剂盒可用于任何自动化染色平台或采用人工染色方法。

贮存和稳定性

六亚甲基四胺/硼砂溶液应在 **2–8°C (36–46°F)** 下储存。其他组件在室温 **15–30°C (59–86°F)** 下储存。
小心：过期后请勿使用。

使用中的稳定性

用户应自行确定产品的使用中的稳定性。

无菌性

GMS 特殊染色试剂盒组件并非无菌产品。

警告/注意事项

应遵循正常的在处理实验室试剂时需要采取的预防措施。遵照当地、州、省或国家的所有规定弃置废弃物。有关任何最新的风险、危害或安全信息，请参阅《材料安全数据表》和产品标签。

传染性材料状况

GMS 特殊染色试剂盒不含任何传染性物质。但是，在标本固定前后，标本及所接触的所有材料应按“可传染”的方式处理，并按设施指南采取适当预防措施进行处置。

特殊设施

GMS 特殊染色试剂盒在使用时应遵守机构指南。

标本处理

建议使用含 **10%** 中性缓冲福尔马林的固定剂。常规脱水、清除、浸蜡和石蜡包埋以及常规切片制备。固定、处理、再水化和切片不良会影响染色质量。经过处理和石蜡包埋后，将组织切成 **4–6** 微米厚的薄片。

使用前的准备工作

染色前，将 **20 ml** 六亚甲基四胺/硼砂溶液和 **20 ml** 硝酸银溶液分别倒入酸洗烧杯中。加热溶液至 **50–55°C**，然后在马上要浸银染色之前，将两种溶液结合起来放入酸洗 **Coplin** 玻片染色缸中。

注释：

- 溶液可通过水浴或实验室烤箱加热。应避免过热，六亚甲基四胺在 **50°C** 以上的温度下会加速分解。
- 将装有 **40 ml** 去离子水或蒸馏水的第二个 **Coplin** 玻片染色缸预热至 **50–55°C**，用作冲洗之用。

使用说明

传统染色方案

1. 用二甲苯对组织切片脱蜡，并通过分级酒精以去离子水或蒸馏水再水化。
2. 在室温下，将载玻片置于改良铬酸溶液中浸泡 **5 - 10** 分钟。
   请注意：应小心操作改良铬酸溶液。
3. 用自来水冲洗载玻片两次，每次换新水。
4. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片两次，每次换新水。
5. 将载玻片置于亚硫酸氢钠溶液中浸泡 **1** 分钟。
6. 用自来水冲洗载玻片 **30** 秒。
7. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片两次，每次换新水。
8. 将预热硝酸银溶液和六亚甲基四胺/硼砂溶液结合起来放入预热的酸洗 **Coplin** 玻片染色缸中。
9. 将载玻片置于六亚甲基四胺/硼砂-硝酸盐溶液，然后在 **50–55°C** 下培养 **20–45** 分钟。经过 **15–20** 分钟后，用非金属镊子取出对照载玻片，将其浸入预热去离子水中进行冲洗，然后用显微镜检查银沉淀的完整性。
10. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **6** 次，每次换新水。
11. 将载玻片置于氯化金溶液中浸泡 **5** 分钟。
12. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **3** 次，每次换新水。
13. 将载玻片置于硫代硫酸钠溶液中浸泡 **2** 分钟。
14. 用自来水彻底冲洗载玻片 **2** 分钟。
15. 将载玻片置于亮绿 **SF** 中浸泡 **40** 秒。
16. 用去离子水或蒸馏水简单冲洗载玻片。
17. 用无水酒精对载玻片进行三次脱水，每次换新酒精。
18. 以二甲苯透明化处理载玻片两次，每次换新二甲苯，然后用与二甲苯混溶的介质进行封固。

特殊染色试剂盒
改良 Grocott 六亚甲基四胺银染色剂

REF 38016SS12

表 **1**：传统 **GMS** 特殊染色试剂盒染色方案示例。

步骤	行动	化学物质	时间 **(mm:ss)**
1-3	脱蜡	二甲苯	**3:00**
4-5	水化	**100%** 酒精	**2:00**
6	水化	**80%** 或 **95%** 酒精	**1:00**
7	水化	去离子水	**1:00**
8	染色	改良铬酸溶液	**5:00-10:00**
9-10	洗涤	自来水	**0:30**
11-12	冲洗	去离子水	**0:10**
13	中和	亚硫酸氢钠溶液	**1:00**
14	冲洗	自来水	**0:30**
15-16	冲洗	去离子水	**0:10**
17	染色/浸染	六亚甲基四胺/硼砂-硝酸银溶液	**20:00-45:00 @ 50–55°C**
18-23	冲洗	去离子水	**0:10**
24	脱水	氯化金溶液	**5:00**
25-27	冲洗	去离子水	**0:10**
28	染色	硫代硫酸钠溶液	**2:00**
29	冲洗	自来水	**2:00**
30	复染	亮绿 **SF**	**0:40**
31	冲洗	去离子水	**0:30**
32-34	脱水	**100%** 酒精	**2:00**
35-36	透明化	二甲苯	**2:00**

注：使用二甲苯替代品时，浸入时间增加大约 **50%**。

微波染色方案

使用微波设备加热任何溶液或试剂时，请务必小心。微波设备必须适当通风，以防止烟雾在实验室中积聚。染色过程中应使用可透过微波的 **Coplin** 玻片染色缸和缸盖。缸盖应盖得松一些，以防溢出。也可以使用有通气孔的缸盖。应按照制造商的说明使用所有微波设备。

1. 用二甲苯对组织切片脱蜡，并通过分级酒精以去离子水或蒸馏水再水化。
2. 将载玻片置于改良铬酸溶液中，并用微波在 **800** 瓦下加热 **10** 秒。
   请注意：应小心操作改良铬酸溶液。
3. 通过晃动旋转 **Coplin** 玻片染色缸进行轻轻混合，静置 **1** 分钟。
4. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **6** 次，每次换新水。
5. 将载玻片置于亚硫酸氢钠溶液中浸泡 **1** 分钟。
6. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **6** 次，每次换新水。
7. 将 **20 ml** 硝酸银溶液和 **20 ml** 六亚甲基四胺/硼砂溶液结合起来放入酸洗的 **Coplin** 塑料玻片染色缸中。
8. 将载玻片置于溶液中，并用微波在 **600** 瓦下加热 **45-50** 秒。
9. 通过晃动旋转 **Coplin** 玻片染色缸进行轻轻混合，静置 **2** 分钟。
10. 用微波在 **600** 瓦下加热溶液 **10** 秒。
11. 轻轻搅拌溶液，用非金属镊子取出对照载玻片，将其浸入预热去离子水中进行冲洗，然后用显微镜检查浸银染色的完整性。如有需要，将载玻片放回温热的六亚甲基四胺/硼砂硝酸银溶液中，晃动旋转 **10-30** 秒。
12. 如有需要，重复步骤 **10** 和 **11**，直至看到银沉淀含量满足要求。
13. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **6** 次，每次换新水。
14. 将载玻片置于氯化金溶液中浸泡 **5** 分钟。
15. 用去离子水或蒸馏水冲洗载玻片 **3** 次，每次换新水。
16. 将载玻片置于硫代硫酸钠溶液中浸泡 **2** 分钟。
17. 用自来水彻底冲洗载玻片 **2** 分钟。
18. 将载玻片置于亮绿 **SF** 中浸泡 **40** 秒。
19. 用去离子水或蒸馏水简单冲洗载玻片。

20. 用无水酒精对载玻片进行 **3** 次脱水，每次换新酒精。
21. 以二甲苯透明化处理载玻片 **2** 次，每次换新二甲苯，然后用与二甲苯混溶的介质进行封固。

使用前准备就绪

选择合适的染色程序并创建浴槽布局后，将所有试剂倒入试剂容器。将试剂容器放回对应的工作站中。

质量控制

每次染色测定中应纳入已知含有真菌元素的组织的质量控制载玻片，其应采用与制作实验标本类似的方法进行固定和处理，以确保 **GMS** 特殊染色试剂盒按预期工作。

预期结果

- 真菌 - 轮廓分明的黑色
- 菌丝体和菌丝的内部成分 - 灰褐色至复古玫瑰色
- 粘蛋白 - 灰褐色到深灰色
- 背景 - 绿色

分析性能

Leica Biosystems 改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色试剂盒不用于检测特定分析物或标记物。这种产品用于在福尔马林固定的石蜡包埋组织切片中显示定义的真菌和传染性病原体，比如*曲霉属菌*、*卡氏肺孢子虫和新型隐球菌*。分析参数，例如分析灵敏度、分析特异性、真实性（偏差）、精度（可重复性和可再现性）、准确性（由真实性和精确度得出）、检测和定量极限、测量范围、线性、截止值，包括为标本收集确定合适的值、处理和控制已知相关内源性和外源性干扰的标准、交叉反应，不适用于该系统的性能。

临床表现

Leica Biosystems 改良 **Grocott** 六亚甲基四胺银染色试剂盒不能作为检测特定疾病或病理过程或状态的手段使用。临床性能指标，如诊断灵敏度、诊断特异性、阳性预测值、阴性预测值、似然比以及正常人群和受影响人群的预期值不适用于临床环境中 **Leica Biosystems** 蓝化剂的使用。

处置

应按照省/市和国家法律法规丢弃用过或过期的 **GMS** 特殊染色试剂盒组件。

特殊染色試劑盒
改性 Grocott 六胺銀染劑

REF 38016SS12

產品名稱

改性 **Grocott** 六胺銀染劑 **(GMS)** 特殊染色試劑盒。

預期用途

檢測／測量

改性 **Grocott** 六胺銀染劑 **(GMS)** 試劑盒不適合用於檢測或測量分析物或標記物。

搭配適當的組織學程序使用時，改性 **Grocott** 六胺銀染劑 可用於展示福馬林固定、石蠟包埋的組織切片中確定的真菌及傳染原，例如*曲霉屬*、*卡氏肺囊蟲和新型隱球菌*。

產品功能

使用 **GMS** 特殊染色試劑盒獲取之結果無法提供客觀醫學證據。**Leica Biosystems GMS** 特殊染色試劑盒對組織樣本產生的著色及對比效果可在顯微鏡檢中顯現解剖結構。此種結構顯現經過訓練有素的專業人員判讀，結合運用其他資訊，如患者病歷、身體狀況以及其他醫學檢測結果，可進行醫學診斷。

提供的具體資訊

Leica Biosystems GMS 試劑盒不適用於檢測、確定或區分特定疾病、症狀或危險因子。當按預期用途使用時，使用本產品所呈現的染色結果可提供經過訓練之專業人員資訊，其可確定組織樣本的生理或病理狀態。

自動化

GMS 特殊染色試劑盒並非自動化，但可用於自動化染色平台。在自動化平台上使用時應在使用點進行確效。

定性/定量

Leica Biosystems GMS 特殊染色試劑盒為定性染劑。

樣本類型

GMS 特殊染色試劑盒可用於任何石蠟包埋的人體或動物樣本。

受檢族群

Leica Biosystems GMS 試劑盒適用於需要進行切片或切除組織評估，以評量疑似病理變化或疾病的任何患者。

預期使用者

GMS 特殊染色試劑盒適合供合格的實驗室人員和／或實驗室指定人員使用。

***體外*診斷**

GMS 試劑盒僅適用於*體外*診斷用途。

檢測原理

改性 **Grocott** 六胺銀染劑 的作用機轉基於醛基將陽離子銀 **(Ag+)** 還原為金屬銀的能力。鉻酸用於透過氧化富含多醣的組織成分中的 **1, 2-**乙二醇基團生成醛基團，例如肝糖、粘蛋白、網狀蛋白及真菌細胞壁。當陽離子銀以甲烯胺**-**銀離子錯合物的形式添加到切片時，醛基將銀離子還原為金屬銀。隨後用氯化金溶液對切片進行調色，以產生比金屬銀更穩定的金屬金，達到出色的對比度及清晰度。

由於改性鉻酸溶液具有強氧化性，許多生成的醛基會進一步氧化成不能還原銀的羧酸基團。改性鉻酸溶液的這種能力具有減少膠原蛋白和基膜的背景反應的優點，並且僅在具有高水平反應性多醣基團的結構中產生的強烈銀浸漬，例如肝糖、粘蛋白及真菌細胞壁。

校正品及對照品

GMS 試劑盒無須使用任何校正品或對照品。

試劑限制

本產品無相關試劑限制。

相關產品

產品代碼	材料描述
38016SS12	改性 **Grocott** 六胺銀染劑 **(GMS)** 特殊染色試劑盒。
38016SS12A	改性鉻酸溶液，**500 ml**
38016SS12B	亞硫酸氫鈉溶液，**500 ml**
38016SS12C	硝酸銀溶液，**250 ml**
38016SS12D	甲烯胺**/**硼砂溶液，**250 ml (A)**
38016SS12E	氯化金溶液，**500 ml**
38016SS12F	硫代硫酸鈉溶液，**500 ml**
38016SS12G	三甲基酚酸性染料，**500 ml**

注意：(A). GMS 試劑盒中不包括冷藏甲烯胺/硼砂溶液（物品編號 38016SS12D，250 ml）。
物品必須單獨訂購，並單獨發貨。

特殊染色試劑盒
改性 Grocott 六胺銀染劑

REF 38016SS12

未含材料

GMS 特殊染色試劑盒程序要求使用梯度酒精、二甲苯或二甲苯替代品、去離子水或蒸餾水。已知含有真菌成分的組織的陽性對照載玻片（不包含於本試劑盒中）應納入每次運行。

所需器材

Leica Biosystems GMS 特殊染色試劑盒可用於各種自動化染色平台或手動染色法。

儲存和穩定性

甲烯胺/硼砂溶液應在 **2-8°C (36-46°F)** 溫度下儲存。其他成分在 **15-30°C (59-86°F)** 室溫下儲存。
注意：請不要使用逾期產品。

使用中穩定性

使用者應自行斟酌判斷使用中的穩定性。

無菌性

GMS 特殊染色試劑盒成分為非無菌產品。

警告／預防措施

應依照在處理實驗室試劑時採取的預防措施常規。遵照所有當地、州、省或國家法規處置廢棄物。有關任何更新的風險、危險或安全資訊，請參閱物質安全資料表和產品標籤。

感染性物質狀態

GMS 特殊染色試劑盒不包含任何感染性物質。然而，樣本（固定前後）和對其暴露的所有材料皆應視為其有傳播感染能力進行處理，並按照機構指引採取適當預防措施進行棄置。

特殊機構

GMS 特殊染色試劑盒應按照機構指引使用。

樣本處理

建議使用含 **10%** 中性緩衝福馬林的固定劑。常規脫水、透明化、石蠟浸潤與包埋，以及常規切片製備。固定、處理、再水化及切片結果不佳會對染色品質造成不良影響。在處理和石蠟包埋之後，切成 **4-6** 微米的切片。

使用準備

在染色之前，將 **20 ml** 的甲烯胺/硼砂溶液與 **20 ml** 的硝酸銀溶液置於單獨的酸清洗過的燒杯中。將溶液加熱至 **50-55°C**，並在即將進行銀浸漬之前將兩種溶液在酸清洗過的 **Coplin** 壺中混合。

附註：

- 可以放在水中或實驗室烤箱內加熱溶液。避免過熱，因為在高於 **50°C** 的溫度下會加速甲烯胺的分解。
- 用 **40 ml** 去離子水或蒸餾水將第二個 **Coplin** 壺預熱至 **50-55°C**，用於沖洗。

使用指南

常規染色程序

1. 用二甲苯為組織切片脫蠟，逐級經梯度酒精直至去離子水或蒸餾水再水化。
2. 在室溫下置於改性鉻酸溶液中 **5-10** 分鐘。
   請注意：處理改性鉻酸溶液時要小心。
3. 用自來水沖洗載玻片兩次，每次換新水。
4. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片兩次，每次換新水。
5. 將載玻片置於亞硫酸氫鈉溶液中 **1** 分鐘。
6. 在流動自來水中沖洗載玻片 **30** 秒。
7. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片兩次，每次換新水。
8. 將預熱的硝酸銀溶液和甲烯胺/硼砂溶液倒入預熱的酸清洗過的 **Coplin** 壺中混合。
9. 將載玻片置於甲烯胺/硼砂-硝酸銀溶液中，在 **50-55°C** 下溫育 **20-45** 分鐘。**15-20** 分鐘後，使用非金屬鑷子取出對照載玻片，浸入預熱的去離子水中進行沖洗，並在顯微鏡下檢查銀沉積的完整性。
10. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **6** 次，每次換新水。
11. 將載玻片置於氯化金溶液中 **5** 分鐘。
12. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **3** 次，每次換新水。
13. 將載玻片置於硫代硫酸鈉溶液中 **2** 分鐘。
14. 在流動自來水中沖洗徹底沖洗載玻片 **2** 分鐘。
15. 將載玻片置於三甲基酚酸性染料中 **40** 秒。
16. 用去離子水或蒸餾水簡單地沖洗載玻片。
17. 用無水酒精為載玻片脫水三次，每次換新酒精。
18. 用二甲苯對載玻片進行透明化處理兩次，每次換新二甲苯，以二甲苯混溶介質封片。

特殊染色試劑盒
改性 Grocott 六胺銀染劑

REF 38016SS12

表 **1.** 常規 **GMS** 特殊染色試劑盒染色程序範例。

步驟	動作	化學物質	時間 **(mm:ss)**
1-3	脫蠟	二甲苯	**3:00**
4-5	水化	**100%** 酒精	**2:00**
6	水化	**80%** 或 **95%** 酒精	**1:00**
7	水化	去離子水	**1:00**
8	染色	改性鉻酸溶液	**5:00-10:00**
9-10	清洗	自來水	**0:30**
11-12	沖洗	去離子水	**0:10**
13	中和	亞硫酸氫鈉溶液	**1:00**
14	沖洗	流動自來水	**0:30**
15-16	沖洗	去離子水	**0:10**
17	染色/浸漬	甲烯胺/硼砂-硝酸銀溶液	**50-55°C** 下 **20:00-45:00**
18-23	沖洗	去離子水	**0:10**
24	脫水	氯化金溶液	**5:00**
25-27	沖洗	去離子水	**0:10**
28	染色	硫代硫酸鈉溶液	**2:00**
29	沖洗	流動自來水	**2:00**
30	複染	三甲基酚酸性染料	**0:40**
31	沖洗	去離子水	**0:30**
32-34	脫水	**100%** 酒精	**2:00**
35-36	透明化	二甲苯	**2:00**

注意：當使用二甲苯替代品時，將浸沒時間增加約 **50%**。

微波染色程序

使用微波裝置加熱任何溶液或試劑時，請務必小心。微波裝置必須適當通風，以防止煙霧在實驗室中積聚。染色過程中應使用微波穿透性 **Coplin** 壺和蓋。蓋應鬆鬆地蓋上以防溢出。也可以使用帶有通風孔的蓋。所有微波裝置應按照製造商說明使用。

1. 用二甲苯為組織切片脫蠟，逐級經梯度酒精直至去離子水或蒸餾水再水化。
2. 將載玻片置於改性鉻酸溶液中，以 **800** 瓦的功率微波加熱 **10** 秒。
   請注意：處理改性鉻酸溶液時要小心。
3. 渦漩晃動 **Coplin** 壺輕輕混合溶液，靜置 **1** 分鐘。
4. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **6** 次，每次換新水。
5. 將載玻片置於亞硫酸氫鈉溶液中 **1** 分鐘。
6. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **6** 次，每次換新水。
7. 將 **20 ml** 的硝酸銀溶液與 **20 ml** 的甲烯胺/硼砂溶液倒入酸清洗過的塑膠 **Coplin** 壺中混合。
8. 將載玻片置於溶液中，以 **600** 瓦的功率微波加熱 **45–50** 秒。
9. 渦漩晃動 **Coplin** 壺輕輕混合溶液，靜置 **2** 分鐘。
10. 以 **600** 瓦的功率微波加熱溶液 **10** 秒。
11. 輕輕攪拌溶液並使用非金屬鑷子取出對照載玻片，浸入預熱的去離子水中沖洗，在顯微鏡下檢查銀浸漬的完整性。如有必要，再次將載玻片置於溫熱的甲烯胺/硼砂-硝酸銀溶液中，渦漩晃動 **10-30** 秒。
12. 如有必要，重複步驟 **10** 和 **11**，直至觀察到銀沉積水平令人滿意為止。
13. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **6** 次，每次換新水。
14. 將載玻片置於氯化金溶液中 **5** 分鐘。
15. 用去離子水或蒸餾水沖洗載玻片 **3** 次，每次換新水。
16. 將載玻片置於硫代硫酸鈉溶液中 **2** 分鐘。
17. 在流動自來水中沖洗徹底沖洗載玻片 **2** 分鐘。
18. 將載玻片置於三甲基酚酸性染料中 **40** 秒。

特殊染色試劑盒
改性 Grocott 六胺銀染劑

REF 38016SS12

19. 用去離子水或蒸餾水簡單地沖洗載玻片。
20. 用無水酒精為載玻片脫水 **3** 次，每次換新酒精。
21. 用二甲苯對載玻片進行透明化處理 **2** 次，每次換新二甲苯，以二甲苯混溶介質封片。

使用就緒

當選定合適的染色程序並備妥水浴配置後，請將所有試劑倒入試劑缸內。將試劑缸放回相應的工作站。

品質管制

每次染色分析皆應包括以與測試樣本類似的方式固定和處理的、已知含有真菌成分的組織的對照載玻片，以確保 **GMS** 特殊染色試劑盒如預期作用。

預期結果

- 真菌 – 輪廓分明的黑色
- 菌絲體及菌絲的內部 – 灰褐色到深玫瑰色
- 粘蛋白 – 灰褐色至深灰色
- 背景 – 綠色

分析性能

Leica Biosystems 改性 **Grocott** 六胺銀染劑 試劑盒不適用於檢測特定分析物或標記物。這些產品可用於展示福馬林固定、石蠟包埋的組織切片中確定的真菌及傳染原，例如*曲霉屬*、*卡氏肺囊蟲和新型隱球菌*。分析參數，例如分析靈敏度、分析特異性、真實度（偏差）、精確度（重複性和再現性）、準確性（由真實度和精確度得出）、偵測和定量限、測量範圍、線性、截止值，包括確定樣本收集和處理的適當標準，以及控制已知的相關內源和外源的干擾、交叉反應，不適用於本系統的效能。

臨床性能

Leica Biosystems 改性 **Grocott** 六胺銀染劑 試劑盒不適用於作為檢測特定疾病或病理過程或狀態的方法。臨床性能指標，例如診斷敏感性、診斷特異性、陽性預測值、陰性預測值、近似比率以及正常和受影響族群的期望值，不適用於在臨床環境中使用 **Leica Biosystems** 藍染劑。

棄置

用過或過期的 **GMS** 特殊染色試劑盒成分應按照機構、當地、州或聯邦法規棄置。

Specialfarvesæt
Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning

REF 38016SS12

Produktnavn

Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning (GMS) specialfarvesæt.

Tilsigtet anvendelse

Påvisning/måling

Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning (GMS) sæt påviser eller måler ikke analytter og markører.

Brugt med de korrekte histologiske protokoller kan modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning anvendes til at påvise identificerede svampeorganismer og smitstoffer som f.eks. *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, og Cryptococcus neoformans* i formalinfikserede, paraffinindstøbte vævssnit.

Produktfunktion

De resultater, der opnås ved brug af GMS-specialfarvesættet, giver ikke objektiv medicinsk evidens. Farven og kontrasten, som Leica Biosystems GMS-specialfarvesættet giver til histologiske prøver, muliggør visualisering af mikroskopisk anatomi. Visualiseringen bruges, når den fortolkes af erfarne fagfolk, parallelt med øvrig information såsom patientens sygehistorie, fysiske tilstand og resultater af andre medicinske prøver til at sammensætte en medicinsk diagnose.

Bestemt information til rådighed

Leica Biosystems GMS-sættet er ikke beregnet til påvisning, definition eller differentiering af en specifik sygdom, tilstand eller risikofaktor. Den farvning, der er vist ved brug af disse produkter, når de bruges som tilsigtet, giver erfarne fagfolk information, som kan bestemme den fysiologiske eller patologiske tilstand af vævsprøven.

Automatisering

GMS-specialfarvesættet er ikke automatiseret, men det kan anvendes på automatiserede farvningsplatforme. Anvendelsen på en automatisk platform skal valideres på anvendelsesstedet.

Kvalitativ/Kvantitativ

Leica Biosystems GMS-specialfarvesættet er et kvalitativt farvningsprodukt.

Prøvetype

GMS-specialfarvesættet kan bruges med enhver paraffinindstøbt prøve fra mennesker eller dyr.

Prøvepopulation

Leica Biosystems GMS-sættet er beregnet til brug til alle patienter, der kræver evaluering af en biopsi eller resektionsvæv til bedømmelse af en formodet patologi eller sygdom.

Tiltænkt bruger

GMS-specialfarvesættet er beregnet til brug af kvalificeret laboratoriepersonale og/eller andet personale udpeget af laboratoriet.

***In vitro*-diagnostik**

GMS-sættet er kun beregnet til *in vitro* -diagnostik.

Testprincipper

Virkemåden af modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning er baseret på aldehydgruppernes evne til at reducere kationisk sølv (Ag+) til metallisk sølv. Kromsyre bruges til at danne aldehydgrupper ved oxidering af 1-2 glycolgrupper i polysaccharidrige vævskomponenter, f.eks. glykogen, mucin, reticulin og svampens cellevægge. Når kationisk sølv tilsættes vævssnittet i form af et methenamin-sølv-ionkompleks, reducerer aldehydgrupperne sølvionerne til metallisk sølv. Vævssnittene tones derefter med en guldkloridopløsning for at producere et metallisk guld, der er mere stabilt end metallisk sølv og som giver en fremragende kontrast og klarhed.

I kraft af den modificerede kromsyreopløsnings markante oxideringspotentiale oxideres mange af de resulterende aldehydgrupper yderligere til karbonsyregrupper, som ikke er i stand til at reducere sølvet. Denne evne i den modificerede kromsyreopløsning har den fordel, at den kan reducere baggrundsreaktioner af kollagen og basalmembraner og danne en kraftig imprægnering med sølvet i kun de strukturer, der besidder høje niveauer af de reaktive polysaccharidgrupper, f.eks. glykogen, mucin og svampens cellevægge.

Kalibratorer og kontroller

GMS-sættet kræver ikke brug af kalibratorer eller kontroller.

Reagensbegrænsninger

Der gælder ikke nogen reagensbegrænsninger for dette produkt.

Omfattede produkter

Produktkode	Materialebeskrivelse
38016SS12	Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning (GMS) specialfarvesæt
38016SS12A	Modificeret kromsyreopløsning, 500 ml
38016SS12B	Natriumhydrogensulfitopløsning, 500 ml
38016SS12C	Sølvnitratopløsning, 250 ml
38016SS12D	Methenamin-/boraksopløsning, 250 ml (A)
38016SS12E	Guldkloridopløsning, 500 ml
38016SS12F	Natriumthiosulfatopløsning, 500 ml

Specialfarvesæt
Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning

REF 38016SS12

38016SS12G	Light Green SF, 500 ml

Bemærk: (A). Den nedkølede methenamin-/boraksopløsning (varenr. 38016SS12D, 250 ml) indgår ikke i GMS-sættet. Varen skal bestilles for sig og forsendes særskilt.

Ikke-medfølgende udstyr

Protokollen for GMS-specialfarvesættet kræver anvendelse af alkoholer med forskellig volumenprocent, xylen eller xylenerstatninger, deioniseret eller destilleret vand. Et eller flere positive kontrolobjektglas med væv, der vides at indeholde svampeelementer (ikke inkluderet i dette sæt), skal indgå i hver kørsel.

Nødvendigt udstyr

Leica Biosystems GMS-specialfarvesæt kan bruges på enhver automatisk farvningsplatform eller med en manuel farvningsmetode.

Opbevaring og stabilitet

Methenamin-/boraksopløsningen skal opbevares ved 2-8 °C (36-46 °F). Andre komponenter opbevares ved stuetemperatur 15-30 °C (59-86 °F).
FORSIGTIG: Brug ikke efter udløbsdatoen.

Stabilitet ved brug

Brugeren bør efter eget skøn fastlægge stabiliteten under anvendelse.

Sterilitet

Komponenterne i GMS-specialfarvesættet er ikke sterile produkter.

Advarsler/forholdsregler

Normale forholdsregler for håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Affald skal bortskaffes i overensstemmelse med alle lokale, statslige, provinsielle eller nationale bestemmelser. Der henvises til materialesikkerhedsbladet og produktmærkningen for opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

Status for infektiøst materiale

GMS-specialfarvesæt indeholder ikke infektiøst materiale. Prøver, både før og efter fiksering, og alle materialer, som eksponeres for dem, skal dog håndteres som værende i stand til at overføre infektion og bortskaffes efter passende forholdsregler i henhold til facilitetens retningslinjer.

Særlige faciliteter

GMS-specialfarvesæt skal anvendes i henhold til facilitetens retningslinjer.

Håndtering af prøver

De foreslåede fiksativer omfatter 10 % neutralbufferet formalin. Rutinemæssig dehydrering, klaring og paraffininfiltrering og -indlejring og rutinemæssig klargøring af mikrotomsnit. Dårlig fiksering, behandling, rehydrering og skæring vil påvirke farvningskvaliteten negativt. Efter behandling og paraffinindstøbning skæres snit på 4-6 mikroner.

Forberedelse til brug

Inden farvningen placeres 20 ml methenamin-/boraksopløsning og 20 ml sølvnitratopløsning i særskilte syrerensede bægere. Varm opløsningerne til 50-55 °C, og – umiddelbart inden sølvimprægneringen – kombinér de to opløsninger i en syrerenset Coplin-skål.

Bemærkninger:

- **Opløsningerne kan varmes i vandbad eller laboratorieovn. Undgå at varme for kraftigt, da nedbrydningen af methenamin fremskyndes, når temperaturen overstiger 50 °C.**
- **Opvarm en anden Coplin-skål med 40 ml deioniseret eller destilleret vand til 50-55 °C til brug til skylning.**

Brugsanvisning

Konventionel farvningsprotokol

1. **Fjern paraffinen fra vævssnittene med xylen, og rehydrér med forskellige grader af alkohol i forhold til deioniseret eller destilleret vand.**
2. **Læg objektglas i en modificeret kromsyreopløsning i 5-10 minutter ved stuetemperatur.**
   Bemærk: Udvis forsigtighed ved håndtering af den modificerede kromsyreopløsning.
3. **Skyl objektglassene to forskellige gange med vand fra hanen.**
4. **Skyl objektglassene to forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.**
5. **Læg objektglassene i en natriumhydrogensulfitopløsning i 1 minut.**
6. **Skyl objektglassene under rindende vand i 30 sekunder.**
7. **Skyl objektglassene to forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.**
8. **Kombinér de opvarmede sølvnitrat- og methenamin-/boraksopløsninger i en opvarmet syrerenset Coplin-skål.**
9. **Læg objektglassene ned i methenamin-/boraks-sølvnitratopløsningen, og inkubér i 20-45 minutter ved 50-55 °C. Efter 15-20 minutter bruges en metalfri tang til at fjerne et kontrolobjektglas. Dyp glasset i det varme deioniserede vand for at skylle det, og tjek under mikroskop for tilstedeværelsen af sølvaflejring.**

Specialfarvesæt
Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning

REF 38016SS12

10. Skyl objektglassene 6 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
11. Læg objektglassene i en guldkloridopløsning i 5 minutter.
12. Skyl objektglassene 3 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
13. Læg objektglassene i en natriumthiosulfatopløsning i 2 minutter.
14. Skyl objektglassene omhyggeligt i rindende vand fra hanen i 2 minutter.
15. Læg objektglassene i Light Green SF i 40 sekunder.
16. Skyl objektglassene kort med deioniseret eller destilleret vand.
17. Dehydrér objektglassene tre forskellige gange i ren alkohol.
18. Objektglassene renses to forskellige gange med xylen og monteres med et monteringsmedie, som er blandbart med xylen.

Tabel 1. Eksempel på konventionel farvningsprotokol med GMS-specialfarvesæt.

Trin	Handling	Kemikalie	Tid (mm:ss)
1-3	Fjern paraffinen	Xylen	3:00
4-5	Hydrering	100 % alkohol	2:00
6	Hydrering	80 % eller 95 % alkohol	1:00
7	Hydrering	Deioniseret vand	1:00
8	Farvning	Modificeret kromsyreopløsning	5:00-10:00
9-10	Vask	Vand fra hanen	0:30
11-12	Skylning	Deioniseret vand	0:10
13	Neutralisering	Natriumhydrogensulfitopløsning	1:00
14	Skylning	Rindende vand	0:30
15-16	Skylning	Deioniseret vand	0:10
17	Farvning/imprægnering	Methenamin-/boraks-sølvnitratopløsning	20:00-45:00 ved 50-55 °C
18-23	Skylning	Deioniseret vand	0:10
24	Dehydrering	Guldkloridopløsning	5:00
25-27	Skylning	Deioniseret vand	0:10
28	Farvning	Natriumthiosulfatopløsning	2:00
29	Skylning	Rindende vand	2:00
30	Kontrastfarvning	Light Green SF	0:40
31	Skylning	Deioniseret vand	0:30
32-34	Dehydrering	100 % alkohol	2:00
35-36	Klaring	Xylen	2:00

Bemærk: Hvis der anvendes xylenerstatning, skal nedsænkningstiderne øges med cirka 50 %.

Farvningsprotokol for mikrobølgeovn

Udvis forsigtighed, når mikrobølgeovnen anvendes til opvarmning af enhver form for opløsning eller reagens. Mikrobølgeovnen skal være passende ventileret for at undgå ophobning af dampe i laboratoriet. Der skal anvendes gennemsigtige Coplin-skåle og låg til brug i mikrobølgeovn under farvningsprocessen. Lågene skal være løst påsat for at undgå spild. Låg med ventilationshuller kan også anvendes. Alle mikrobølgeovne skal anvendes i overensstemmelse med fabrikantens anvisninger.

1. Fjern paraffinen fra vævssnittene med xylen, og rehydrér med forskellige grader af alkohol i forhold til deioniseret eller destilleret vand.
2. Læg objektglassene i den modificerede kromsyreopløsning, og opvarm i mikrobølgeovn ved 800 watt i 10 sekunder.
   Bemærk: Udvis forsigtighed ved håndtering af den modificerede kromsyreopløsning.
3. Bland forsigtigt ved at hvirvle Coplin-skålen rundt, og lad den stå i 1 minut.
4. Skyl objektglassene 6 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
5. Læg objektglassene i en natriumhydrogensulfitopløsning i 1 minut.
6. Skyl objektglassene 6 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
7. Kombinér 20 ml sølvnitratopløsning og 20 ml methenamin-/boraksopløsning i en syrerenset Coplin-plastikskål.
8. Læg objektglassene i opløsningen, og opvarm i mikrobølgeovn ved 600 watt i 45-50 sekunder.
9. Bland forsigtigt ved at hvirvle Coplin-skålen rundt, og lad den stå i 2 minutter.

Specialfarvesæt
Modificeret Grocotts methenaminsølvfarvning

REF 38016SS12

10. Varm opløsningen i 10 sekunder ved 600 watt.
11. Ryst opløsningen forsigtigt, og brug en metalfri tang til at fjerne et kontrolobjektglas. Dyp glasset i det forvarmede deioniserede vand for at skylle det, og tjek under mikroskop for tilstedeværelsen af sølvimprægnering. Hvis det er nødvendigt, lægges objektglassene igen i den varme methenamin-/boraks-sølvopløsning, og opløsningen hvirvles rundt i 10-30 sekunder.
12. Hvis det er nødvendigt, gentages trin 10 og 11, indtil der observeres tilfredsstillende sølvaflejring.
13. Skyl objektglassene 6 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
14. Læg objektglassene i en guldkloridopløsning i 5 minutter.
15. Skyl objektglassene 3 forskellige gange med deioniseret eller destilleret vand.
16. Læg objektglassene i en natriumthiosulfatopløsning i 2 minutter.
17. Skyl objektglassene omhyggeligt i rindende vand fra hanen i 2 minutter.
18. Læg objektglassene i Light Green SF i 40 sekunder.
19. Skyl objektglassene kort med deioniseret eller destilleret vand.
20. Dehydrér objektglassene 3 forskellige gange i ren alkohol.
21. Objektglassene renses to forskellige gange med xylen og monteres med et monteringsmedie, som er blandbart med xylen.

Brugsklarhed

Når den rette farvningsprotokol er valgt og badoversigten er oprettet, hældes al reagenset over i reagensbeholderen. Sæt reagensbeholderen tilbage i dens respektive station.

Kvalitetskontrol

Et eller flere kvalitetskontrolobjektglas med væv, der vides at indeholde svampeelementer, og som er fikseret og behandlet på samme måde som testpræparaterne, skal inkluderes i hver farvningsanalyse for at sikre, at GMS-specialfarvesættet har den tilsigtede ydeevne.

Forventede resultater

- Svampeorganismer – tydeligt sort omrids
- Indvendig del af mycelium og hyfe – gråbrun til gammelrosa
- Mucin – gråbrun til mørkegrå
- Baggrund – grøn

Analytiske resultater

Leica Biosystems modificeret Grocotts methenaminsølvfarvningssæt anvendes ikke til påvisning af specifikke analytter eller markører. Disse produkter bruges til at påvise identificerede svampeorganismer og smitstoffer som f.eks. *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii og Cryptococcus neoformans* i formalinfikserede, paraffinindstøbte vævssnit. Analytiske parametre som analytisk sensitivitet, analytisk specificitet, korrekthed (bias), præcision (gentagelighed og reproducerbarhed), nøjagtighed (som resultat af korrekthed og præcision), detektions- og kvantificeringgrænse, måleområde, linearitet, afskæring, herunder bestemmelse af passende kriterier for prøveindsamling og -håndtering samt kontrol af kendt, relevant endogen og exogen interferens og kryds-reaktioner gælder ikke for ydelsen af dette system.

Klinisk ydelse

Leica Biosystems modificerede Grocotts methenaminsølvfarvningssæt er ikke beregnet som et redskab til at påvise en bestemt sygdom eller patologisk proces eller tilstand. Indeks for klinisk ydelse såsom diagnostisk følsomhed, diagnostisk specificitet, positiv prædiktiv værdi, negativ prædiktiv værdi, sandsynlighedsforhold såvel som forventede værdier i normale og afficerede populationer gælder ikke for brug af Leica Biosystems blåningsmidler i et klinisk miljø.

Bortskaffelse

Brugte eller udløbne komponenter til GMA-specialfarvesættet skal bortskaffes i henhold til organisationens samt lokale og statslige bestemmelser.

Speciale kleuringsset
Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring

REF **38016SS12**

Productnaam

Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring (GMS) speciale kleuringsset.

Beoogd gebruik

Detectie/Meting

De gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuringsset (GMS) dient niet voor de detectie of meting van een analyt of marker.

Wanneer gebruikt met geschikte histologische protocollen kan de gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring worden gebruikt voor het aantonen van gedefinieerde schimmels en infectieuze agentia zoals *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, en Cryptococcus neoformans* in met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes.

Productfunctie

De resultaten die worden verkregen met gebruik van de GMS speciale kleuringsset, leveren geen objectief medisch bewijs. De kleuring en het contrast die de speciale GMS-kleuringsset van Leica Biosystems aan histologische monsters geeft, maken visualisatie van de microscopische anatomie mogelijk. Deze visualisatie, wanneer geïnterpreteerd door een getrainde professional, wordt gebruikt naast andere informatie, zoals de medische geschiedenis van de patiënt, de lichamelijke conditie van de patiënt, evenals resultaten van andere medische testen om een medische diagnose te stellen.

Specifieke informatie verstrekt

De GMS-set van Leica Biosystems is niet bedoeld voor de detectie, definitie of differentiatie van een specifieke afwijking, aandoening of risicofactor. De kleuring die optreedt als deze producten worden gebruikt zoals beoogd, biedt getrainde professionals informatie die de fysiologische of pathologische toestand van het weefselmonster kan bepalen.

Automatisering

De GMS speciale kleuringsset is niet geautomatiseerd, maar kan worden gebruikt op geautomatiseerde kleuringsplatforms. Gebruik op een geautomatiseerd platform dient op de plaats van gebruik te worden gevalideerd.

Kwalitatief/kwantitatief

De GMS speciale kleuringsset van Leica Biosystems is een kwalitatieve kleuring.

Type monster

De GMS speciale kleuringsset kan worden gebruikt met alle in paraffine ingebedde monsters van mens of dier.

Testpopulatie

De GMS-set van Leica Biosystems is bestemd voor gebruik bij patiënten voor wie een evaluatie van biopt- of resectieweefsel nodig is ten behoeve van de bepaling van een vermoedelijke pathologie of ziekte.

Beoogde gebruiker

De GMS speciale kleuringsset is bedoeld voor gebruik door gekwalificeerd laboratoriumpersoneel en/of aangewezen laboratoriummedewerkers.

***In-vitro*diagnostiek**

De GMS-set is uitsluitend bestemd voor gebruik bij *in-vitro*diagnostiek.

Testprincipe

Het werkingsmechanisme van gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring is gebaseerd op het vermogen van aldehydegroepen om kationisch zilver (AG+) te reduceren tot metallisch zilver. Met behulp van chroomzuur worden aldehydegroepen gegenereerd door het oxideren van 1-2 glycolgroepen in polysacchariderijke weefselbestanddelen, bijv. glycogeen, mucine, reticuline en celwanden van schimmels. Wanneer kationisch zilver wordt toegevoegd aan de coupe in de vorm van een methenamine-zilverioncomplex, reduceren de aldehydegroepen de zilverionen tot metallisch zilver. Aan de coupes wordt vervolgens goudchloride-opslossing toegevoegd om metallisch goud te vormen dat stabieler is dan metallisch zilver en superieur contrast en helderheid geeft.

Wegens het sterk oxiderende vermogen van de gemodificeerde chroomzuuroplossing, worden veel van de resulterende aldehydegroepen verder geoxideerd in carboxylzuurgroepen die niet in staat zijn om zilver te reduceren. Dit vermogen van de gemodificeerde chroomzuuroplossing heeft het voordeel dat achtergrondreacties van collageen en basale membranen worden verminderd en zorgt voor een sterke impregnatie van zilver uitsluitend in die structuren die een hoog gehalte van de reactieve polysaccharidegroepen bevatten, bijv. glycogeen, mucine en celwanden van schimmels.

Kalibratie- en controlemiddelen

Voor het gebruik van de GMS-set zijn geen kalibratie- en controlemiddelen nodig.

Restricties aan het gebruik van het reagens

Voor dit product gelden geen restricties aan het gebruik van het reagens.

Speciale kleuringsset
Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring

REF 38016SS12

Toepasselijke producten

Productcode	Beschrijving materiaal
38016SS12	Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring (GMS) speciale kleuringsset
38016SS12A	Gemodificeerde chroomzuuroplossing, 500 ml
38016SS12B	Natriumbisulfietoplossing, 500 ml
38016SS12C	Zilvernitraatoplossing, 250 ml
38016SS12D	Methenamine/boraxoplossing, 250 ml (A)
38016SS12E	Goudchlorideoplossing, 500 ml
38016SS12F	Natriumthiosulfaatoplossing, 500 ml
38016SS12G	Lichtgroen SF, 500 ml

Opmerking: (A). De gekoelde methenamine/boraxoplossing (Artikelnr. 38016SS12D, 250 ml) is niet inbegrepen in de GMS-set. Artikel moet apart worden besteld en wordt apart verzonden.

Niet-inbegrepen materialen

Het protocol van de GMS speciale kleuringsset vereist het gebruik van alcohol in verschillende verdunningen, xyleen of xyleenvervangers, gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Een of meer objectglaasjes met weefsel waarvan bekend is dat ze elementen van schimmel bevatten (niet bij deze set inbegrepen) moeten in elke run worden opgenomen.

Benodigde hulpmiddelen

De GMS speciale kleuringsset van Leica Biosystems kan worden gebruikt op elk geautomatiseerd kleuringsplatform of met een handmatige kleuringsmethode.

Opslag en stabiliteit

De methenamine/boraxoplossing moet worden bewaard bij 2–8 °C (36–46 °F). Bewaar andere onderdelen bij kamertemperatuur van 15–30 °C (59–86 °F).
LET OP: Niet gebruiken na de vervaldatum.

Stabiliteit tijdens gebruik

Voor het bepalen van de stabiliteit tijdens gebruik dient de gebruiker zijn eigen inzicht te volgen.

Steriliteit

De bestanddelen van de GMS speciale kleuringsset zijn geen steriele producten.

Waarschuwingen/Voorzorgsmaatregelen

De normale voorzorgsmaatregelen die worden genomen bij het hanteren van laboratoriumreagentia, moeten worden gevolgd. Voer afval af in overeenstemming met alle lokale, regionale of landelijke voorschriften. Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering en documentatie van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

Status als infectieus materiaal

De GMS speciale kleuringsset bevat geen infectieus materiaal. Monsters, vóór en na fixatie, en alle materialen die eraan worden blootgesteld, moeten echter worden behandeld alsof deze een infectie kunnen overbrengen. Deze moeten worden verwijderd met de juiste voorzorgsmaatregelen volgens de richtlijnen van de instelling.

Speciale voorzieningen

De GMS speciale kleuringsset moet volgens de richtlijnen van de instelling worden gebruikt.

Hantering van monsters

Een van de aangeraden fixeermiddelen is 10% neutraalgebufferde formaline. Routinematig dehydrateren, klaren, infiltreren en inbedden met paraffine, en routinematig prepareren van microtoomcoupes. Gebrekkig fixeren, verwerken, rehydrateren en snijden heeft een nadelig effect op de kwaliteit van de kleuring. Snijd het weefsel, na verwerking en inbedding in paraffine, in coupes van 4 tot 6 micrometer.

Voorbereiding voor gebruik

Doe voorafgaand aan de kleuring 20 ml van de methenamine/boraxoplossing en 20 ml van de zilvernitraatoplossing in aparte, met zuur gereinigde bekerglazen. Verwarm de oplossingen tot 50–55 °C en combineer de 2 oplossingen vlak voor de zilverimpregnatie in een met zuur gespoelde Coplin-kleurpot.

Speciale kleuringsset
Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring

REF 38016SS12

Opmerkingen:

- **Oplossingen kunnen worden verwarmd in een waterbad of een laboratoriumoven. Voorkom oververhitting, omdat de afbraak van methenamine wordt versneld bij temperaturen boven 50 °C.**
- **Verwarm een tweede Coplin-kleurpot voor met 40 ml gedeïoniseerd of gedestilleerd water tot 50–55 °C om te gebruiken als een spoeling.**

Gebruiksinstructie

Conventioneel kleuringsprotocol

1. **Deparaffineer weefselcoupes met xyleen en rehydrateer met alcohol in verschillende verdunningen tot gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
2. **Leg coupes gedurende 5–10 minuten in gemodificeerde chroomzuuroplossing bij kamertemperatuur. Let op: Wees voorzichtig bij het hanteren van de gemodificeerde chroomzuuroplossing.**
3. **Spoel coupes 2 keer in telkens vers leidingwater.**
4. **Spoel coupes 2 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
5. **Leg coupes gedurende 1 minuut in natriumbisulfietoplossing.**
6. **Spoel coupes gedurende 30 seconden onder stromend leidingwater.**
7. **Spoel coupes 2 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
8. **Meng de voorverwarmde zilvernitraatoplossing en methenamine/boraxoplossing in een voorverwarmde, met zuur gereinigde Coplin-kleurpot.**
9. **Leg coupes in de methenamine/borax-zilvernitraatoplossing en incubeer gedurende 20–45 minuten op 50–55 °C. Verwijder na 15–20 minuten met een niet-metalen pincet een controlecoupe, doop deze in het voorverwarmde gedeïoniseerde water om te spoelen en controleer met een microscoop de volledigheid van de zilverafzetting.**
10. **Spoel coupes 6 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
11. **Leg coupes gedurende 5 minuten in goudchloride-oplossing.**
12. **Spoel coupes 3 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
13. **Leg coupes gedurende 2 minuten in natriumthiosulfaatoplossing.**
14. **Spoel coupes gedurende 2 minuten onder stromend leidingwater.**
15. **Leg coupes gedurende 40 seconden in lichtgroen SF.**
16. **Spoel coupes kort in gedeïoniseerd of gedestilleerd water.**
17. **Dehydrateer coupes 3 keer in telkens vers puur alcohol.**
18. **Coupes klaren in 2 verversingen van xyleen en inbedden in een medium dat mengbaar is met xyleen.**

Tabel 1. Voorbeeld van een standaard kleuringsprotocol voor de GMS speciale kleuringsset.

Stap	Actie	Chemische stof	Tijd (mm:ss)
1-3	Deparaffineren	Xyleen	3:00
4-5	Hydrateren	100% alcohol	2:00
6	Hydrateren	80% of 95% alcohol	1:00
7	Hydrateren	Gedeïoniseerd water	1:00
8	Kleuren	Gemodificeerde chroomzuuroplossing	5:00-10:00
9-10	Wassen	Leidingwater	0:30
11-12	Spoelen	Gedeïoniseerd water	0:10
13	Neurtraliseren	Natriumbisulfietoplossing	1:00
14	Spoelen	Stromend leidingwater	0:30
15-16	Spoelen	Gedeïoniseerd water	0:10
17	Kleuren/impregneren	Methenamine/borax-zilvernitraatoplossing	20:00-45:00 @ 50–55 °C
18-23	Spoelen	Gedeïoniseerd water	0:10
24	Dehydrateren	Goudchlorideoplossing	5:00
25-27	Spoelen	Gedeïoniseerd water	0:10
28	Kleuren	Natriumthiosulfaatoplossing	2:00
29	Spoelen	Stromend leidingwater	2:00
30	Tegenkleuring	Lichtgroen SF	0:40
31	Spoelen	Gedeïoniseerd water	0:30
32-34	Dehydrateren	100% alcohol	2:00

35-36	Klaren	Xyleen	2:00

Opmerking: Bij gebruik van xyleenvervanger, de onderdompelingstijd met ongeveer 50% verlengen.

Kleuringsprotocol met gebruik van magnetron

Wees voorzichtig bij gebruik van een magnetron voor het opwarmen van oplossingen of reagentia. De magnetron moet goed worden geventileerd om ophoping van dampen in het laboratorium te voorkomen. Tijdens het kleuringsproces moeten transparante Coplin-kleurpotjes en -doppen worden gebruikt. De doppen moeten losjes worden aangebracht om morsen te voorkomen. Er mogen ook doppen met luchtgaatjes worden gebruikt. Alle magnetrons moeten worden gebruikt volgens de instructies van de fabrikant.

1. Deparaffineer weefselcoupes met xyleen en rehydrateer met alcohol in verschillende verdunningen tot gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
2. Leg coupes in de gemodificeerde chroomzuuroplossing en verwarm gedurende 10 seconden in de magnetron op 800 watt. Let op: Wees voorzichtig bij het hanteren van de gemodificeerde chroomzuuroplossing.
3. Voorzichtig mengen door zwenken van het Coplin-kleurpotje en 1 minuut laten staan.
4. Spoel coupes 6 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
5. Leg coupes gedurende 1 minuut in natriumbisulfietoplossing.
6. Spoel coupes 6 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
7. Meng 20 ml van de methenamine/boraxoplossing en 20 ml van de zilvernitraatoplossing in een met zuur gereinigd Coplin-kleurpotje.
8. Leg coupes in de oplossing en verwarm gedurende 45–50 seconden in de magnetron op 600 watt.
9. Voorzichtig mengen door zwenken van het Coplin-kleurpotje en 2 minuten laten staan.
10. Verwarm de oplossing gedurende 10 seconden in de magnetron op 600 watt.
11. Schud de oplossing voorzichtig en verwijder met een niet-metalen pincet een controlecoupe, doop deze in voorverwarmd gedeïoniseerd water om te spoelen en controleer met een microscoop de volledigheid van de zilverafzetting. Vervang zo nodig coupes in de warme methenamine/borax-zilvernitraatoplossing en meng door 10–30 seconden te zwenken.
12. Herhaal zo nodig stap 10 en 11 totdat een adequate hoeveelheid zilverafzetting wordt waargenomen.
13. Spoel coupes 6 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
14. Leg coupes gedurende 5 minuten in goudchloride-oplossing.
15. Spoel coupes 3 keer in telkens vers gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
16. Leg coupes gedurende 2 minuten in natriumthiosulfaatoplossing.
17. Spoel coupes gedurende 2 minuten onder stromend leidingwater.
18. Leg coupes gedurende 40 seconden in lichtgroen SF.
19. Spoel coupes kort in gedeïoniseerd of gedestilleerd water.
20. Dehydrateer coupes 3 keer in telkens vers puur alcohol.
21. Coupes klaren in 2 verversingen van xyleen en inbedden in een medium dat mengbaar is met xyleen.

Gereedheid voor gebruik

Nadat het geschikte kleuringsprotocol is gekozen en de badopstelling gereed is gemaakt, giet u al het reagens in de reagenscontainer. Plaats de reagenscontainer terug in het respectieve station.

Kwaliteitscontrole

In elke kleuringsassay moeten een of meerdere kwaliteitscontrolecoupes worden opgenomen met weefsel waarvan bekend is dat het elementen van schimmel bevat en die op soortgelijke wijze als de testmonsters zijn gefixeerd en verwerkt, om te controleren of de speciale GMS-kleuringsset werkt zoals beoogd.

Verwachte resultaten

- Schimmels – scherp omlijnd zwart
- Binnenste delen van mycelia en hyfen – taupe tot oudroze
- Mucine – taupe tot donkergrijs
- Achtergrond – groen

Analytische prestaties

De gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuringssets van Leica Biosystems dienen niet voor de detectie of meting van een specifieke analyt of marker. Deze producten worden gebruikt voor het aantonen van definieerde schimmels en infectieuze agentia zoals *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii en Cryptococcus neoformans* in met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefselcoupes. Analytische parameters, zoals analytische gevoeligheid, analytische specificiteit, echtheid (bias), precisie (herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid), nauwkeurigheid (als gevolg van echtheid en precisie), detectie- en kwantificatielimieten, meetbereik, lineariteit, grenswaarde, inclusief bepaling van de juiste criteria voor het verzamelen en hanteren van monsters en het beheersen van bekende, relevante endogene en exogene interferentie, en kruisreacties zijn niet van toepassing op de prestaties van dit systeem.

Speciale kleuringsset
Gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuring

REF 38016SS12

Klinische prestaties

De gemodificeerde Grocott's methenamine zilverkleuringssets van Leica Biosystems zijn niet bestemd voor gebruik als een middel om een specifieke ziekte of een pathologisch proces of pathologische toestand te detecteren. Klinische prestatie-indicatoren, zoals diagnostische gevoeligheid, diagnostische specificiteit, positief voorspellende waarde, negatief voorspellende waarde, waarschijnlijkheidsratio en verwachte waarden in normale en getroffen populaties zijn niet van toepassing op het gebruik van bluing agents van Leica Biosystems in een klinische omgeving.

Afvalverwerking

Gebruikte of verlopen bestanddelen van de GMS speciale kleuringsset moeten worden afgevoerd in overeenstemming met de voorschriften van de organisatie en lokale, regionale en landelijke voorschriften.

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott

REF 38016SS12

Nom du produit

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott (GMS).

Usage prévu

Détection/mesure

La trousse de coloration à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott (GMS) ne détecte pas et ne mesure pas un analyte ou un marqueur.

La coloration à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott, lorsqu'utilisée avec des protocoles histologiques appropriés, peut se révéler pratique pour démontrer des champignons et des agents infectieux définis tels que les spores d'*Aspergillus,* le *Pneumocystis carinii* et le *Cryptococcus neoformans,* dans les coupes de tissus fixées avec du formol et enrobées de paraffine.

Fonction du produit

Les résultats obtenus lors de l'utilisation de la trousse de coloration spéciale au GMS ne fournissent pas de preuves médicales objectives. La coloration et le contraste obtenus à l'aide de la trousse de coloration spéciale au GMS de Leica Biosystems permettent de visualiser l'anatomie microscopique d'échantillons histologiques. Cette visualisation, lorsqu'elle est interprétée par un professionnel qualifié, est utilisée avec d'autres informations telles que les antécédents médicaux du patient, son état physique et les résultats d'autres tests médicaux pour poser un diagnostic médical.

Renseignements particuliers fournis

La trousse de coloration spéciale au GMS de Leica Biosystems n'est pas conçue pour la détection, la définition ou la différenciation d'un trouble, d'une affection ou d'un facteur de risque précis. La coloration démontrée lors de l'utilisation de ces produits, lorsqu'ils sont utilisés comme prévu, fournit aux professionnels qualifiés des informations pouvant définir l'état physiologique ou pathologique d'un échantillon tissulaire.

Automatisation

La trousse de coloration spéciale au GMS n'est pas automatisée, mais peut être utilisée sur des plates-formes de coloration automatisées. L'utilisation sur une plate-forme automatisée doit être validée au point d'utilisation.

Qualitatif/quantitatif

La trousse de coloration spéciale au GMS de Leica Biosystems est un colorant qualitatif.

Type d'échantillon

La trousse de coloration spéciale au GMS peut être utilisée avec n'importe quel échantillon humain ou animal traité par enrobage à la paraffine.

Population à tester

La trousse de coloration spéciale au GMS de Leica Biosystems est conçue pour être utilisée dans le cas de patients nécessitant l'examen d'une biopsie ou d'une résection tissulaire pour l'évaluation des cas présumés de pathologie ou de maladie.

Utilisateur prévu

La trousse de coloration spéciale au GMS est destinée à être utilisée par du personnel de laboratoire qualifié et/ou par une personne désignée par le laboratoire.

Diagnostic *in vitro*

La trousse de coloration spéciale au GMS est conçue pour être utilisée pour le diagnostic *in vitro* uniquement.

Principe du test

Le mécanisme d'action du colorant à l'argent-méthénamine de Grocott modifiée est basé sur la capacité des groupes aldéhyde à réduire l'argent cationique (Ag+) en argent métallique. L'acide chromique est utilisé pour générer des groupes aldéhyde par l'oxydation de groupes 1,2 glycol dans des composants tissulaires riches en polysaccharides, p. ex., le glycogène, la mucine, la réticuline et les parois cellulaires fongiques. Lorsque de l'argent cationique est ajouté à la coupe sous la forme d'un complexe méthénamine-ion argent, les groupes aldéhyde réduisent les ions d'argent en argent métallique. La coloration des coupes peut ensuite être intensifiée à l'aide d'une solution de chlorure d'or pour produire de l'or métallique qui est plus stable que l'argent métallique et qui produit un contraste et une clarté supérieurs.

En raison du fort potentiel oxydant de la solution d'acide chromique modifié, de nombreux groupes aldéhyde résultants sont ensuite oxydés en groupes d'acide carboxylique qui sont incapables de réduire l'argent. Cette capacité de la solution d'acide chromique modifiée a l'avantage de réduire le bruit de fond créé par les réactions du collagène et des membranes basales et de produire une forte imprégnation d'argent uniquement dans les structures qui possèdent des concentrations élevées de groupes aptes à réagir aux polysaccharides, par ex. le glycogène, la mucine et les parois cellulaires fongiques.

Calibrateurs et témoins

La trousse de coloration spéciale au GMS ne nécessite l'utilisation d'aucun calibrateur ni témoin.

Limites des réactifs

Aucune limite concernant le réactif n'est applicable à ce produit.

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott

REF 38016SS12

Produits applicables

Code du produit	Description du produit
38016SS12	Trousse de coloration à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott (GMS)
38016SS12A	Solution d'acide chromique modifié, 500 ml
38016SS12B	Solution de bisulfite de sodium, 500 ml
38016SS12C	Solution de nitrate d'argent, 250 ml
38016SS12D	Solution de méthénamine/borax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solution de chlorure d'or, 500 ml
38016SS12F	Solution de thiosulfate sodique, 500 ml
38016SS12G	Vert acide J, 500 ml

Remarque : (A). La solution de méthénamine/borax réfrigérée (article n° 38016SS12D, 250 ml) n'est pas incluse dans la trousse au GMS. L'article doit être commandé séparément et sera livré séparément.

Produits non inclus

Le protocole d'utilisation de la trousse de coloration spéciale au GMS nécessite l'utilisation d'alcools en concentrations croissantes, de xylène ou de substituts du xylène et d'eau désionisée ou distillée. Une ou des lames témoins positives les éléments fongiques (non comprises dans la trousse), doivent être incluses dans chaque série d'analyse.

Dispositifs nécessaires

La trousse de coloration spéciale au GMS de Leica Biosystems peut être utilisée sur toute plate-forme de coloration automatisée ou avec une méthode de coloration manuelle.

Entreposage et stabilité

La solution de méthénamine/borax doit être conservée à une température comprise entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F). Conserver les autres composant à une température ambiante comprise entre 15 et 30 °C (59 et 86 °F).
MISE EN GARDE : Ne pas utiliser après la date de péremption.

Stabilité à l'usage

La détermination de la stabilité en cours d'utilisation est au jugement de l'utilisateur.

Stérilité

Les substances contenues dans la trousse de coloration spéciale au GMS ne sont pas des produits stériles.

Avertissements et précautions

Les précautions normales observées lors de la manipulation de réactifs de laboratoire doivent être respectées. Éliminer les déchets en respectant tous les règlements locaux, provinciaux, nationaux ou fédéraux. Consulter la fiche signalétique et la documentation du produit pour connaître toute mise à jour des renseignements relatifs aux risques, aux dangers ou aux consignes de sécurité.

Statut de matière infectieuse

La trousse de coloration spéciale au GMS ne comprend aucune matière infectieuse. Toutefois, les échantillons, avant et après la fixation, et tout le matériel qui y est exposé doivent être manipulés comme s'ils pouvaient transmettre une infection et éliminés en prenant les précautions nécessaires, conformément aux directives de l'établissement.

Installations spéciales

La trousse de coloration spéciale au GMS doit être utilisée conformément aux lignes directrices de l'établissement.

Manipulation des échantillons

Les fixateurs suggérés comprennent le formol neutre à 10 % tamponné. Procéder aux étapes normales de déshydratation, d'éclaircissement et d'imprégnation et d'enrobage à la paraffine, puis à une préparation normale des coupes au microtome. Une exécution inadéquate de la fixation, du traitement, de la réhydratation ou de la coupe nuira à la qualité de la coloration. Après la préparation et l'enrobage à la paraffine, faire des coupes de 4 à 6 microns.

Préparation à l'utilisation

Avant la coloration, placer 20 ml de la solution de méthénamine/borax et 20 ml de la solution de nitrate d'argent dans des béchers séparés nettoyés à l'acide. Chauffer les solutions à une température comprise entre 50 et 55 °C et juste avant l'imprégnation d'argent, combiner les deux solutions dans un bocal Coplin lavé à l'acide.

Remarques :

- **Les solutions peuvent être chauffées à l'aide d'un bain-marie ou d'un four de laboratoire. Éviter la surchauffe, car la dégradation de la méthénamine est accélérée à des températures supérieures à 50 °C.**
- **Préchauffer un deuxième bocal Coplin contenant 40 ml d'eau désionisée ou distillée à une température comprise entre 50 et 55 °C à utiliser comme rinçage.**

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott

REF 38016SS12

Mode d'emploi

Protocole de coloration classique

1. **Déparaffiner les coupes de tissu dans du xylène et réhydrater dans des alcools en concentrations croissantes en finissant dans l'eau désionisée ou distillée.**
2. **Placer les lames dans une solution d'acide chromique modifié pendant 5 à 10 minutes à température ambiante. Remarque : Faire attention en manipulant la solution d'acide chromique modifié.**
3. **Rincer les lames deux fois à l'eau du robinet.**
4. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou de l'eau distillée changée deux fois.**
5. **Placer les lames dans une solution de bisulfite de sodium pendant 1 minute.**
6. **Rincer les lames à l'eau du robinet pendant 30 secondes.**
7. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou de l'eau distillée changée deux fois.**
8. **Mélanger la solution de nitrate d'argent préchauffée et la solution de méthénamine/borax dans un bocal Coplin préchauffé nettoyé à l'acide.**
9. **Placer les lames dans la solution de méthénamine/borax-nitrate d'argent et incuber pendant 20 à 45 minutes à une température comprise entre 50 et 55 °C. Après 15 à 20 minutes, à l'aide de pinces non métalliques, retirer une lame témoin, tremper dans de l'eau désionisée préchauffée pour rincer et vérifier au microscope l'intégralité du dépôt d'argent.**
10. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou distillée changée 6 fois.**
11. **Placer les lames dans une solution de chlorure d'or pendant 5 minutes.**
12. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou de distillée changée 3 fois.**
13. **Placer les lames dans une solution de thiosulfate sodique pendant 2 minutes.**
14. **Rincer abondamment à l'eau courante du robinet pendant 2 minutes.**
15. **Placer les lames dans le vert acide J pendant 40 secondes.**
16. **Rincer les lames brièvement dans de l'eau désionisée ou distillée.**
17. **Déshydrater les lames dans l'alcool absolu changé trois fois.**
18. **Éclaircir les lames dans du xylène changé deux fois et les fixer dans un support pour préparation microscopique miscible dans le xylène.**

Tableau 1. Exemple de protocole de trousse de coloration spéciale au GMS.

Étapes	Action	Produit chimique	Temps (mm:ss)
1-3	Déparaffinage	Xylène	3:00
4-5	Hydratation	Alcool, 100 %	2:00
6	Hydratation	Alcool, 80 % ou 95 %	1:00
7	Hydratation	Eau désionisée	1:00
8	Coloration	Solution d'acide chromique modifié	5:00-10:00
9-10	Lavage	Eau du robinet	0:30
11-12	Rinçage	Eau désionisée	0:10
13	Neutralisation	Solution de bisulfite de sodium	1:00
14	Rinçage	Eau courante du robinet	0:30
15-16	Rinçage	Eau désionisée	0:10
17	Coloration/imprégnation	Solution de méthénamine/borax-nitrate d'argent	Entre 20:00 et 45:00 à une température comprise entre 50 et 55 °C
18-23	Rinçage	Eau désionisée	0:10
24	Déshydratation	Solution de chlorure d'or	5:00
25-27	Rinçage	Eau désionisée	0:10
28	Coloration	Solution de thiosulfate sodique	2:00
29	Rinçage	Eau courante du robinet	2:00
30	Contre-coloration	Vert acide J	0:40
31	Rinçage	Eau désionisée	0:30
32-34	Déshydratation	Alcool, 100 %	2:00
35-36	Éclaircissement	Xylène	2:00

Remarque : Si un substitut de xylène est utilisé, augmenter le temps d'immersion d'environ 50 %.

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott

REF 38016SS12

Protocole de coloration au four à micro-ondes

Faire attention en utilisant le four à micro-ondes pour chauffer quelque solution ou réactif que ce soit. Le four à micro-ondes doit être ventilé adéquatement pour éviter l'accumulation de vapeurs dans le laboratoire. Des bocaux Coplin et des couvercles transparents pour micro-ondes doivent être utilisés pendant le processus de coloration. Les couvercles ne doivent pas être fermés hermétiquement pour éviter les débordements. Des couvercles pourvus de trous d'aération peuvent également être utilisés. Tous les fours à micro-ondes doivent être utilisés selon les directives du fabricant.

1. **Déparaffiner les coupes de tissu dans du xylène et réhydrater dans des alcools en concentrations croissantes en finissant dans l'eau désionisée ou distillée.**
2. **Placer les lames dans une solution d'acide chromique modifié et chauffer au four à micro-ondes à une puissance de 800 watts pendant 10 secondes.**
   Remarque : Faire attention en manipulant la solution d'acide chromique modifié.
3. **Remuer délicatement la solution et laisser reposer pendant 1 minute.**
4. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou distillée changée 6 fois.**
5. **Placer les lames dans une solution de bisulfite de sodium pendant 1 minute.**
6. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou distillée changée 6 fois.**
7. **Mélanger 20 ml de solution de nitrate d'argent et 20 ml de solution de méthénamine/borax dans un bocal de Coplin en plastique nettoyé à l'acide.**
8. **Placer les lames dans la solution et chauffer au four à micro-ondes à une puissance de 600 watts pendant 45 à 50 secondes.**
9. **Mélanger délicatement en remuant le bocal de Coplin et laisser reposer pendant 2 minutes.**
10. **Chauffer la solution au four à micro-ondes pendant 10 secondes à une puissance de 600 watts.**
11. **Agiter doucement la solution et, à l'aide de pinces non métalliques, retirer une lame de contrôle, la tremper dans de l'eau désionisée préchauffée pour rincer et vérifier au microscope l'intégralité de l'imprégnation d'argent. Au besoin, replacer les lames dans la solution tiède de méthénamine/nitrate d'argent borax et agiter pendant 10 à 30 secondes.**
12. **Répéter au besoin les étapes 10 et 11 jusqu'à ce qu'un niveau satisfaisant de dépôt d'argent soit observé.**
13. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou distillée changée 6 fois.**
14. **Placer les lames dans une solution de chlorure d'or pendant 5 minutes.**
15. **Rincer les lames dans de l'eau désionisée ou distillée changée 3 fois.**
16. **Placer les lames dans une solution de thiosulfate sodique pendant 2 minutes.**
17. **Rincer abondamment à l'eau courante du robinet pendant 2 minutes.**
18. **Placer les lames dans le vert acide J pendant 40 secondes.**
19. **Rincer les lames brièvement dans de l'eau désionisée ou distillée.**
20. **Déshydrater les lames dans l'alcool absolu changé 3 fois.**
21. **Éclaircir les lames dans du xylène changé 2 fois et les fixer dans un support pour préparation microscopique miscible dans le xylène.**

Disponibilité à l'utilisation

Une fois le protocole de coloration approprié choisi et le plan des bains créé, verser la totalité du réactif dans le bain de réactif. Replacer le bain de réactif dans sa station.

Contrôle de la qualité

Une ou des lames témoins contenant les éléments fongiques, fixées et traitées de la même manière que les éprouvettes doivent être incluses dans chaque série d'analyse afin d'assurer que la trousse de coloration spéciale au GMS fonctionne comme prévu.

Résultats prévus

- **Champignons - nettement délimités en noir**
- **Parties internes du mycélium et de l'hyphe - taupe à vieux rose**
- **Mucine – taupe à gris foncé**
- **Fond – vert**

Performance analytique

Les trousses de coloration à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott de Leica Biosystems ne sont pas utilisées pour détecter un analyte ou un marqueur spécifiques. Ces produits sont utilisés pour démontrer des champignons et des agents infectieux définis tels que les *spores d'Aspergillus, le Pneumocystis carinii et le Cryptococcus neoformans*, dans les coupes de tissus fixées avec du formol et enrobées de paraffine. Les paramètres analytiques, tels que la sensibilité analytique, la spécificité analytique, la justesse (biais), la précision (répétabilité et reproductibilité), l'exactitude (résultant de la justesse et de la précision), les limites de détection et de quantification, la plage de mesure, la linéarité, la coupure, y compris la détermination des critères appropriés pour le prélèvement et la manipulation des échantillons et le contrôle des interférences endogènes et exogènes pertinentes connues, et les réactions croisées ne sont pas applicables aux performances du présent système.

Trousse de coloration spéciale à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott

REF 38016SS12

Performance clinique

Les trousses de coloration à l'argent-méthénamine modifiée de Grocott de Leica Biosystems ne sont pas conçues comme un moyen de détection d'une maladie ni d'un processus ou d'un état pathologique précis. Les indices de performance clinique tels que la sensibilité diagnostique, la spécificité diagnostique, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative, le rapport de vraisemblance ainsi que les valeurs attendues dans les populations normales et affectées ne s'appliquent pas à l'utilisation des agents bleuissants de Leica Biosystems en milieu clinique.

Élimination

Les composants de la trousse de coloration spéciale au GMS utilisés ou périmés doivent être jetés conformément aux règlements organisationnels, locaux, provinciaux, nationaux et fédéraux.

Kit de coloration spéciale
Colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine

REF 38016SS12

Nom du produit

Kit de coloration spéciale Grocott modifié de l'argent de méthénamine (AMG).

Usage prévu

Détection/Mesure

Le kit de coloration Grocott modifié de l'argent de méthénamine (AMG) ne détecte pas et ne mesure pas d'analyte ou de marqueur. Lorsque le colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine est utilisé avec les protocoles histologiques appropriés, il peut être utilisé pour démontrer la présence d'agents fongiques et infectieux définis, tels que *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii et Cryptococcus neoformans* dans des coupes de tissus fixées au formol et enrobées de paraffine.

Fonction du produit

Les résultats obtenus en utilisant le kit de coloration spéciale AMG ne fournissent pas de preuves médicales objectives. La coloration et le contraste fournis par le kit de coloration spéciale AMG Leica Biosystems aux échantillons histologiques permettent de visualiser l'anatomie microscopique. Si elle est interprétée par un professionnel qualifié, cette visualisation est utilisée avec d'autres informations telles que l'historique du patient, l'état physique ainsi que les résultats d'autres tests médicaux, pour rendre un diagnostic médical.

Informations spécifiques

Le kit AMG Leica Biosystems n'est pas destiné à la détection, la définition ou la différenciation d'une pathologie, d'une affection ou d'un facteur de risque spécifique. La coloration démontrée avec l'utilisation de ces produits, dans le cadre d'une utilisation prévue, fournit aux professionnels qualifiés des informations permettant de définir l'état physiologique et pathologique de l'échantillon de tissu.

Automatisation

Le kit de coloration spéciale AMG n'est pas automatisé, mais il peut être utilisé sur des plateformes de coloration automatisées. L'utilisation sur une plateforme automatisée doit être validée au point d'utilisation.

Analyse qualitative/quantitative

Le kit de coloration spéciale AMG Leica Biosystems offre une coloration qualitative.

Type d'échantillon

Le kit de coloration spéciale AMG peut être utilisé avec tout échantillon humain ou animal enrobé de paraffine.

Population test

Le kit AMG Leica Biosystems est conçu pour une utilisation avec n'importe quelle évaluation de tissu de biopsie ou de résection, afin de déterminer une pathologie ou une maladie suspecte.

Utilisateur ciblé

Le kit de coloration spéciale AMG doit être utilisé par le personnel de laboratoire qualifié et/ou désigné.

Diagnostic *in vitro*

Le kit AMG est exclusivement réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Principe d'essai

Le mécanisme d'action du colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine repose sur la capacité des groupes aldéhyde à réduire l'argent cationique (Ag+) en argent métallique. L'acide chromique est utilisé pour générer des groupes aldéhyde par l'oxydation de 1 à 2 groupes glycol au sein des composants tissulaires riches en polysaccarides, p. ex. le glycogène, la mucine, la réticuline et les parois cellulaires fongiques. Lorsque l'argent cationique est ajouté à la section sous forme de complexe ionique d'argent de méthénamine, les groupes aldéhyde réduisent les ions d'argent en argent métallique. Les coupes sont ultérieurement atténuées à l'aide d'une solution au chlorure d'or afin de produire de l'or métallique qui est plus stable que l'argent métallique et qui produit un contraste et une clarté supérieurs.

En raison du fort potentiel oxydant de la solution d'acide chromique modifiée, plusieurs parmi les groupes aldéhyde résultants sont ultérieurement oxydés en des groupes d'acide carboxylique qui sont incapables de réduire l'argent. Cette capacité de la solution d'acide chromique modifiée présente l'avantage de réduire les réactions de fond du collagène et des membranes basales, et produit une forte imprégnation en argent seulement dans les structures contenant des taux élevés de groupes de polysaccarides réactifs, p. ex. le glycogène, la mucine et les parois cellulaires fongiques.

Calibrateurs et contrôleurs

Le kit AMG ne nécessite pas d'utiliser de calibrateurs ni de contrôleurs.

Restrictions des agents réactifs

Aucune restriction des agents réactifs ne s'applique à ce produit.

Kit de coloration spéciale
Colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine

REF 38016SS12

Produits applicables

Code produit	Description des matériaux
38016SS12	Kit de coloration spéciale Grocott modifié de l'argent de méthénamine (AMG)
38016SS12A	Solution à l'acide chromique modifié, 500 ml
38016SS12B	Solution au bisulfite de sodium, 500 ml
38016SS12C	Solution au nitrate d'argent, 250 ml
38016SS12D	Solution au méthénamine/Borax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solution au chlorure d'or, 500 ml
38016SS12F	Solution au thiosulfate d'argent, 500 ml
38016SS12G	Vert clair SF, 500 ml

Remarque : (A). La solution au méthénamine/Borax réfrigérée (article n° 38016SS12D, 250 ml) n'est pas incluse dans le kit AMG. L'article doit être commandé séparément et sera expédié séparément.

Matériaux non inclus

Le protocole applicable au kit de coloration spéciale AMG requiert d'utiliser des alcools rectifiés, du xylène ou des substituts de xylène, ainsi que de l'eau désionisée ou distillée. La ou les lames de contrôle positif avec du tissu connu pour contenir des éléments fongiques (non incluses dans ce kit) doivent être intégrées dans chaque série.

Appareils requis

Le kit de coloration spéciale AMG Leica Biosystems peut être utilisé sur n'importe quelle plateforme de coloration automatisée ou avec une méthode de coloration manuelle.

Conservation et stabilité

La solution au méthénamine/Borax doit être conservée entre 2 et 8 °C (36 et 46 °F). Conserver les autres composants à une température ambiante de 15 à 30 °C (59 à 86 °F).
MISE EN GARDE : Ne pas utiliser après la date de péremption.

Stabilité chimique

La détermination de la stabilité d'utilisation est à la discrétion de l'utilisateur.

Asepsie

Les composants du kit de coloration spéciale AMG ne sont pas stériles.

Mises en garde/Précautions

Les précautions standard de manipulation des réactifs de laboratoire doivent être appliquées. Jeter les déchets conformément à l'ensemble des règlements locaux, régionaux ou nationaux. Se reporter à la fiche de données de sécurité du matériau et à l'étiquette du produit pour toute information mise à jour concernant les risques, le danger ou la sécurité.

Statut des matières infectieuses

Le kit de coloration spéciale AMG ne renferme pas de matière infectieuse. Cependant, les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels exposés aux échantillons, doivent être manipulés comme s'ils pouvaient transmettre une infection et doivent être éliminés en utilisant les précautions appropriées.

Installations spéciales

Le kit de coloration spéciale AMG doit être utilisé conformément aux directives de l'établissement.

Manipulation des échantillons

Les fixateurs suggérés incluent le formol à 10 % neutre tamponné. Déshydratation, éclaircissement, infiltration et inclusion de paraffine, et préparation des coupes microtomiques de routine. Un(e) mauvais(e) fixation, traitement, réhydratation et/ou découpe compromettront la qualité de la coloration. Une fois le traitement et l'inclusion dans la paraffine terminés, coupez des sections de 4 à 6 microns.

Préparatifs avant utilisation

Avant de procéder à la coloration, placer 20 ml de la solution au méthénamine/Borax et 20 ml de la solution au nitrate d'argent dans des béchers distincts nettoyés à l'acide. Chauffer les solutions entre 50 et 55 °C et juste avant l'imprégnation dans l'argent, combiner les deux solutions dans un récipient de type Coplin lavé à l'acide.

Remarques :

- **Les solutions peuvent être chauffées à l'aide d'un bain d'eau ou d'un four de laboratoire. Éviter toute surchauffe car la décomposition du méthénamine est accélérée aux températures supérieures à 50 °C.**
- **Préchauffer un deuxième récipient de type Coplin contenant 40 ml d'eau désionisée ou distillée entre 50 et 55 °C à utiliser pour le rinçage.**

Kit de coloration spéciale
Colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine

REF 38016SS12

Directives d'utilisation

Protocole de coloration conventionnel

1. **Déparaffiner les coupes tissulaires avec du xylène et réhydrater avec des alcools rectifiés dans de l'eau désionisée ou distillée.**
2. **Placer les lames dans la solution à l'acide chromique modifié pendant 5 à 10 minutes à température ambiante. À noter : Faire preuve de prudence lors de la manipulation de la solution à l'acide chromique modifié.**
3. **Rincer les lames dans deux bains d'eau de robinet.**
4. **Rincer les lames dans deux bains d'eau désionisée ou distillée.**
5. **Placer les lames dans la solution au bisulfite de sodium pendant 1 minute.**
6. **Rincer les lames sous l'eau du robinet pendant 30 secondes.**
7. **Rincer les lames dans deux bains d'eau désionisée ou distillée.**
8. **Combiner la solution au nitrate d'argent et la solution au méthénamine/Borax préchauffées dans un récipient de type Coplin nettoyé à l'acide et préchauffé.**
9. **Placer les lames dans la solution au méthénamine/Borax-nitrate d'argent et incuber pendant 20 à 45 minutes entre 50 et 55 °C. Après 15 à 20 minutes, à l'aide d'une pince non métallique, retirer une lame de contrôle, la plonger dans l'eau désionisée préchauffée pour la rincer, puis vérifier au microscope l'intégralité du dépôt d'argent.**
10. **Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée ou distillée.**
11. **Placer les lames dans la solution au chlorure d'or pendant 5 minutes.**
12. **Rincer les lames dans 3 bains d'eau désionisée ou distillée.**
13. **Placer les lames dans la solution au thiosulfate de sodium pendant 2 minutes.**
14. **Rincer les lames soigneusement à l'eau du robinet pendant 2 minutes.**
15. **Placer les lames dans le vert clair SF pendant 40 secondes.**
16. **Rincer brièvement les lames dans de l'eau désionisée ou distillée.**
17. **Déshydrater les lames dans trois bains d'alcool absolu.**
18. **Éclaircir les lames dans deux bains de xylène et monter dans un milieu miscible avec le xylène.**

Tableau 1. Exemple de protocole de coloration conventionnel applicable au kit de coloration spéciale AMG

Étapes	Action	Composition chimique	Durée (mm:ss)
1-3	Déparaffinage	Xylène	3:00
4-5	Hydratation	Alcool 100 %	2:00
6	Hydratation	Alcool à 80 % ou 95 %	1:00
7	Hydratation	Eau désionisée	1:00
8	Coloration	Solution à l'acide chromique modifié	5:00-10:00
9-10	Lavage	Eau du robinet	0:30
11-12	Rinçage	Eau désionisée	0:10
13	Neutralisation	Solution au bisulfite de sodium	1:00
14	Rinçage	Eau courante du robinet	0:30
15-16	Rinçage	Eau désionisée	0:10
17	Coloration/ Imprégnation	Solution au méthénamine/Borax-nitrate d'argent	20:00-45:00 entre 50 et 55 °C
18-23	Rinçage	Eau désionisée	0:10
24	Déshydratation	Solution au chlorure d'or	5:00
25-27	Rinçage	Eau désionisée	0:10
28	Coloration	Solution au thiosulfate d'argent	2:00
29	Rinçage	Eau courante du robinet	2:00
30	Contre-coloration	Vert lumière SF	0:40
31	Rinçage	Eau désionisée	0:30
32-34	Déshydratation	Alcool 100 %	2:00
35-36	Éclaircissement	Xylène	2:00

Remarque : Lorsqu'un substitut de xylène est utilisé, allonger les durées d'immersion d'environ 50 %.

Kit de coloration spéciale
Colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine

REF 38016SS12

Protocole de coloration au microondes

Utiliser le microondes avec prudence pour réchauffer une solution ou un réactif. Le microondes doit être correctement ventilé pour prévenir toute accumulation de fumées dans le laboratoire. Des récipients et bouchons de type Coplin transparents pour microondes doivent être utilisés durant le processus de coloration. Les bouchons doivent être posés sans serrer pour éviter les déversements. Des bouchons équipés d'évents d'aération peuvent également être utilisés. Tous les microondes doivent être utilisés conformément aux instructions du fabricant.

1. **Déparaffiner les coupes tissulaires avec du xylène et réhydrater avec des alcools rectifiés dans de l'eau désionisée ou distillée.**
2. **Placer les lames dans la solution à l'acide chromique modifié et placer au microondes à 800 watts pendant 10 secondes. À noter : Faire preuve de prudence lors de la manipulation de la solution à l'acide chromique modifié.**
3. **Mélanger délicatement en agitant le récipient de type Coplin, puis laisser reposer pendant 1 minute.**
4. **Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée ou distillée.**
5. **Placer les lames dans la solution au bisulfite de sodium pendant 1 minute.**
6. **Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée ou distillée.**
7. **Combiner 20 ml de la solution au nitrate d'argent et 20 ml de la solution au méthénamine/Borax dans un récipient de type Coplin en plastique nettoyé à l'acide.**
8. **Placer les lames dans la solution et placer au microondes à 600 watts pendant 45 à 50 secondes.**
9. **Mélanger délicatement en agitant le récipient de type Coplin, puis laisser reposer pendant 2 minutes.**
10. **Placer la solution au microondes pendant 10 secondes à 600 watts.**
11. **Agiter délicatement la solution, puis à l'aide d'une pince non métallique, retirer une lame de contrôle, la plonger dans l'eau désionisée préchauffée pour la rincer et vérifier sous microscope l'intégralité de l'imprégnation en argent. Si nécessaire, replacer les lames dans la solution au méthénamine/Borax-nitrate d'argent et agiter pendant 10 à 30 secondes.**
12. **Si nécessaire, répéter les étapes 10 et 11 jusqu'à constater un niveau de dépôt d'argent satisfaisant.**
13. **Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée ou distillée.**
14. **Placer les lames dans la solution au chlorure d'or pendant 5 minutes.**
15. **Rincer les lames dans 3 bains d'eau désionisée ou distillée.**
16. **Placer les lames dans la solution au thiosulfate de sodium pendant 2 minutes.**
17. **Rincer les lames soigneusement à l'eau du robinet pendant 2 minutes.**
18. **Placer les lames dans le vert clair SF pendant 40 secondes.**
19. **Rincer brièvement les lames dans de l'eau désionisée ou distillée.**
20. **Déshydrater les lames dans 3 bains d'alcool absolu.**
21. **Éclaircir les lames dans 2 bains de xylène et monter dans un milieu miscible avec le xylène.**

Préparation à l'utilisation

Une fois le protocole de coloration approprié sélectionné et la disposition des bains créée, verser tout le réactif dans la cupule réactionnelle. Remettez la cupule réactionnelle dans la station concernée.

Contrôle qualité

Une ou plusieurs lames de contrôle qualité avec des tissus connus pour contenir des éléments fongiques, fixées et traitées comme les échantillons de test, doivent être intégrées dans chaque essai de coloration pour s'assurer que le kit de coloration spéciale AMG fonctionne comme prévu.

Résultats escomptés

- **Champignons – noir nettement délimité**
- **Parties internes du mycélium et des hyphes – taupe à vieux rose**
- **Mucine – taupe à gris foncé**
- **Fond – vert**

Performance analytique

Les kits de coloration Grocott modifié de l'argent de méthénamine Leica Biosystems ne sont pas utilisées pour détecter un analyte ou un marqueur spécifique. Ces produits sont utilisés pour démontrer la présence d'agents fongiques et infectieux définis tels que *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii et Cryptococcus neoformans* dans des coupes de tissus fixées au formol et enrobées de paraffine. Les paramètres analytiques tels que la sensibilité analytique, la spécificité analytique, la justesse (biais), la précision (répétabilité et reproductibilité), l'exactitude (résultant de la justesse et de la précision), les limites de détection et de quantification, la plage de mesure, la linéarité, le seuil, y compris la détermination des critères appropriés pour le prélèvement et la manipulation des échantillons et le contrôle des interférences endogènes et exogènes pertinentes connues et les réactions croisées ne s'appliquent pas aux performances de ce système.

Kit de coloration spéciale
Colorant Grocott modifié de l'argent de méthénamine

REF 38016SS12

Performance clinique

Les kits de coloration Grocott modifié de l'argent de méthénamine Leica Biosystems ne sont pas destinés à être utilisés comme moyen de détection d'une maladie spécifique ou d'un processus ou d'un état pathologique. Les indices de performance clinique tels que la sensibilité diagnostique, la spécificité diagnostique, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative, le rapport de vraisemblance ainsi que les valeurs attendues dans les populations normales et affectées ne s'appliquent pas à l'utilisation des agent de bleuissement Leica Biosystems dans un contexte clinique.

Élimination

Les composants du kit de coloration spéciale AMG usagés ou périmés doivent être mis au rebut conformément aux réglementations internes, locales, nationales et fédérales.

Spezialfärbekit
Modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung

REF 38016SS12

Produktbezeichnung

Spezialfärbekit für die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung (GMS)

Verwendungszweck

Erfassung/Messung

Das Kit für die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung (GMS) erkennt oder misst keinen Analyten oder Marker.
Die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung kann bei Verwendung geeigneter histologischer Protokolle zum Nachweis definierter Pilze und Infektionserreger wie *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii und Cryptococcus neoformans* in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden.

Produktfunktionen

Die durch die Verwendung des GMS-Spezialfärbekits erzielten Ergebnisse stellen keinen objektiven medizinischen Beweis dar. Färbung und Kontrast, die das Leica Biosystems GMS-Spezialfärbekit bei histologischen Proben bietet, ermöglichen die Visualisierung der mikroskopischen Anatomie. Diese Visualisierung wird, wenn sie von einer ausgebildeten Fachkraft interpretiert wird, zusammen mit anderen Informationen wie der Anamnese des Patienten, dem körperlichen Zustand sowie den Ergebnissen anderer medizinischer Tests verwendet, um eine medizinische Diagnose zu erstellen.

Produktspezifische Angaben

Das Leica Biosystems GMS-Kit ist nicht für die Erkennung, Definition oder Differenzierung einer bestimmten Störung, eines bestimmten Zustands oder eines bestimmten Risikofaktors bestimmt. Die bei zweckgemäßer Verwendung dieser Produkte nachgewiesene Färbung liefert der ausgebildeten Fachkraft Informationen, die den physiologischen oder pathologischen Zustand der Gewebeprobe bestimmen können.

Automatisierung

Das GMS-Spezialfärbekit ist nicht automatisiert, es kann aber in Färbeautomaten verwendet werden. Die Verwendung auf einem Färbeautomaten sollte am Einsatzort validiert werden.

Qualitativ/Quantitativ

Das Leica Biosystems GMS-Spezialfärbekit ist eine qualitative Färbung.

Probentyp

Das GMS-Spezialfärbekit kann mit allen in Paraffin eingebetteten menschlichen oder tierischen Proben verwendet werden.

Testpopulation

Das Leica Biosystems GMS-Kit ist für alle Patienten vorgesehen, bei denen eine Untersuchung von Biopsie- oder Resektionsgewebe zur Abklärung eines Verdachts auf einen pathologischen Befund oder eine Krankheit erforderlich ist.

Vorgesehene Benutzergruppe

Das GMS-Spezialfärbekit ist zur Verwendung durch qualifiziertes Laborpersonal und/oder Beauftragte des Labors vorgesehen.

***In-vitro*-Diagnostik**

Das GMS-Kit ist nur für die Verwendung bei der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

Testprinzip

Der Wirkmechanismus der modifizierten Grocott-Methenamin-Silberfärbung basiert auf der Fähigkeit von Aldehydgruppen, kationisches Silber (Ag+) zu metallischem Silber zu reduzieren. Zur Gewinnung von Aldehydgruppen durch Oxidation von 1–2 Glykolgruppen mit polysaccharidreichen Gewebekomponenten wie z. B. Glykogen, Muzin, Retikulin und den Zellwänden von Pilzen wird Chromsäure verwendet. Wenn dem Schnitt kationisches Silber in Form eines Methenamin-Silberionen-Komplexes zugeführt wird, reduzieren die Aldehydgruppen die Silberionen zu metallischem Silber. Die Schnitte werden anschließend mit Goldchlorid-Lösung getönt, um metallisches Gold herzustellen, das stabiler als metallisches Silber ist und höheren Kontrast und größere Klarheit erzeugt.
Aufgrund des starken Oxidationspotenzials der modifizierten Chromsäure-Lösung werden viele der resultierenden Aldehydgruppen zu Carbonsäuregruppen weiteroxidiert, die Silber nicht reduzieren können. Diese Fähigkeit der modifizierten Chromsäure-Lösung hat den Vorteil, dass Hintergrundreaktionen von Kollagen und Basalmembranen reduziert werden, und erzeugt nur in Strukturen mit hohen Konzentrationen an reaktiven Polysaccharidgruppen wie z. B. Glykogen, Muzin und den Zellwänden von Pilzen eine starke Infiltration mit Silber.

Kalibratoren und Kontrollen

Für das GMS-Kit sind keine Kalibratoren oder Kontrollen erforderlich.

Reagenzeinschränkungen

Für dieses Produkt gelten keine Reagenzeinschränkungen.

Spezialfärbekit
Modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung

REF 38016SS12

Anwendbare Produkte

Produktcode	Materialbeschreibung
38016SS12	Spezialfärbekit für die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung (GMS)
38016SS12A	Modifizierte Chromsäure-Lösung, 500 ml
38016SS12B	Natriumbisulfit-Lösung, 500 ml
38016SS12C	Silbernitrat-Lösung, 250 ml
38016SS12D	Methenamin/Borax-Lösung, 250 ml (A)
38016SS12E	Goldchlorid-Lösung, 500 ml
38016SS12F	Natriumthiosulfat-Lösung, 500 ml
38016SS12G	Lichtgrün SF, 500 ml

Hinweis: (A). Die gekühlte Methenamin/Borax-Lösung (Art.-Nr. 38016SS12D, 250 ml) ist nicht im GMS-Kit enthalten. Der Artikel muss separat bestellt werden und wird separat geliefert.

Nicht enthaltene Materialien

Das Protokoll des GMS-Spezialfärbekits erfordert die Verwendung von abgestuften Alkoholkonzentrationen, Xylol oder Xylolersatzstoffen, entionisiertem oder destilliertem Wasser. Ein oder mehrere positive Kontroll-Objektträger, die bekanntermaßen Gewebe mit Pilzelementen enthalten, (nicht Bestandteil dieses Kits) sollten bei jedem Lauf einbezogen werden.

Erforderliche Geräte

Das Leica Biosystems GMS-Spezialfärbekit kann in jedem Färbeautomaten oder mit einer manuellen Färbemethode verwendet werden.

Lagerung und Stabilität

Die Methenamin/Borax-Lösung sollte bei 2–8 °C (36–46 °F) gelagert werden. Die anderen Komponenten bei einer Raumtemperatur von 15–30 °C (59–86 °F) lagern.
VORSICHT: Nicht nach dem Verfalldatum verwenden.

Verwendungsstabilität

Bei der Bestimmung der Verwendungsstabilität sollte der Anwender nach eigenem Ermessen vorgehen.

Sterilität

Die Komponenten des GMS-Spezialfärbekits sind keine sterilen Produkte.

Warnhinweise/Vorsichtsmaßnahmen

Normale Vorsichtsmaßnahmen sollten beim Umgang mit Laborreagenzien ausgeübt werden. Entsorgen Sie Abfall gemäß den örtlichen, staatlichen, provinziellen oder nationalen Vorschriften. Siehe das Materialsicherheitsdatenblatt und die Produktetiketten für aktualisierte Risiken, Gefahren, oder Sicherheit Information.

Status als infektiöses Material

Das GMS-Spezialfärbekit enthält kein infektiöses Material. Proben müssen jedoch ebenso wie alle ihnen ausgesetzten Materialien vor und nach dem Fixieren in einer Weise behandelt werden, als könnten sie potenziell Infektionen übertragen. Außerdem muss die Entsorgung unter Beachtung der korrekten Vorsichtsmaßnahmen gemäß den Richtlinien der Einrichtung erfolgen.

Sondereinrichtungen

Das GMS-Spezialfärbekit sollte gemäß den Richtlinien der Einrichtung verwendet werden.

Probenhandhabung

Zu den empfohlenen Fixiermitteln gehört 10%iges neutral gepuffertes Formalin. Routinemäßige Entwässerung, Klärung und Paraffininfiltration und -einbettung sowie routinemäßige Vorbereitung von Mikrotomschnitten. Schlechte Fixierung, Verarbeitung, Rehydrierung und Schnittführung beeinträchtigen die Qualität der Färbung. Nach der Aufbereitung und Einbettung in Paraffin Schnitte mit einer Dicke von 4–6 Mikrometern schneiden.

Vorbereitungen

Vor dem Färben 20 ml der Methenamin/Borax-Lösung und 20 ml der Silbernitrat-Lösung jeweils in ein mit Säure gereinigtes Becherglas geben. Die Lösungen auf 50–55 °C erwärmen und unmittelbar vor der Silberinfiltration beide Lösungen in einer mit Säure ausgewaschenen Coplin-Schale zusammenführen.

Anmerkungen:

- **Die Lösungen können im Wasserbad oder Laborofen erwärmt werden. Überhitzung vermeiden, da die Zersetzung von Methenamin bei Temperaturen von über 50 °C beschleunigt wird.**

- Eine zweite Coplin-Schale mit 40 ml entionisiertem oder destilliertem Wasser auf 50–55 °C vorerwärmen; dieses Wasser wird später zur Spülung verwendet.

Gebrauchsanweisung

Konventionelles Färbeprotokoll

1. Gewebeschnitte mit Xylol entparaffinieren und mit abgestuften Alkoholkonzentrationen bis hin zu entionisiertem oder destilliertem Wasser rehydrieren.
2. Objektträger 5–10 Minuten lang bei Raumtemperatur in modifizierte Chromsäure-Lösung einlegen.
   Bitte beachten: Beim Umgang mit modifizierter Chromsäure-Lösung ist Vorsicht geboten.
3. Objektträger zweimal mit Leitungswasser spülen.
4. Objektträger zweimal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.
5. Objektträger 1 Minute lang in Natriumbisulfit-Lösung einlegen.
6. Objektträger 30 Sekunden lang mit fließendem Leitungswasser spülen.
7. Objektträger zweimal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.
8. Die vorgewärmte Silbernitrat-Lösung und die Methenamin/Borax-Lösung in einer vorgewärmten, mit Säure gereinigten Coplin-Schale zusammenführen.
9. Objektträger in die Methenamin/Borax-Lösung einlegen und 20–45 Minuten lang bei 50–55 °C inkubieren. Nach 15–20 Minuten mit einer nichtmetallischen Pinzette einen Kontroll-Objektträger entnehmen, zum Spülen in vorgewärmtes entionisiertes Wasser tauchen und unter dem Mikroskop auf Vollständigkeit der Silberanlagerung prüfen.
10. Objektträger 6-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.
11. Objektträger 5 Minuten lang in Goldchlorid-Lösung einlegen.
12. Objektträger 3-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.
13. Objektträger 2 Minuten lang in Natriumthiosulfat-Lösung einlegen.
14. Objektträger 2 Minuten lang gründlich unter fließendem Leitungswasser spülen.
15. Objektträger 40 Sekunden lang in Lichtgrün SF einlegen.
16. Objektträger kurz mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.
17. Objektträger dreimal mit reinem Alkohol entwässern.
18. Objektträger zweimal mit Xylol klären und in ein mit Xylol mischbares Medium eindecken.

Tabelle 1. Beispiel für ein konventionelles Färbeprotokoll für das GMS-Spezialfärbekit.

Schritte	Aktion	Chemikalie	Zeit (mm:ss)
1–3	Entparaffinieren	Xylol	3:00
4–5	Wässerung	100%iger Alkohol	2:00
6	Wässerung	80%iger oder 95%iger Alkohol	1:00
7	Wässerung	Entionisiertes Wasser	1:00
8	Färbung	Modifizierte Chromsäure-Lösung	5:00–10:00
9–10	Waschung	Leitungswasser	0:30
11–12	Spülung	Entionisiertes Wasser	0:10
13	Neutralisierung	Natriumbisulfit-Lösung	1:00
14	Spülung	Fließendes Leitungswasser	0:30
15–16	Spülung	Entionisiertes Wasser	0:10
17	Färbung/Infiltration	Methenamin/Borax-Silbernitrat-Lösung	20:00–45:00 bei 50–55 °C
18–23	Spülung	Entionisiertes Wasser	0:10
24	Entwässerung	Goldchlorid-Lösung	5:00
25–27	Spülung	Entionisiertes Wasser	0:10
28	Färbung	Natriumthiosulfat-Lösung	2:00
29	Spülung	Fließendes Leitungswasser	2:00
30	Gegenfärbung	Lichtgrün SF	0:40
31	Spülung	Entionisiertes Wasser	0:30
32–34	Entwässerung	100%iger Alkohol	2:00

35–36	Klärung	Xylol	2:00

Hinweis: Bei der Verwendung eines Xylolersatzstoffs, erhöhen Sie die Immersionsdauer um ungefähr 50 %.

Mikrowellen-Färbeprotokoll

Seien Sie bei der Verwendung der Mikrowelle, um Lösungen oder Reagenzien zu erwärmen, vorsichtig. Die Mikrowelle muss ordnungsgemäß belüftet werden, um die Akkumulation von Dämpfen im Labor zu verhindern. Transparente Coplin-Schalen und Kappen für die Mikrowelle sollten während des Färbeprozesses verwendet werden. Die Kappen sollten locker aufgesetzt werden, um ein Verschütten zu verhindern. Kappen mit Belüftungslöchern können ebenfalls verwendet werden. Alle Mikrowellen sollten gemäß der Anweisungen des Herstellers verwendet werden.

1. **Gewebeschnitte mit Xylol entparaffinieren und mit abgestuften Alkoholkonzentrationen bis hin zu entionisiertem oder destilliertem Wasser rehydrieren.**
2. **Objektträger in die modifizierte Chromsäure-Lösung einlegen und 10 Sekunden lang bei 800 Watt in der Mikrowelle erwärmen. Bitte beachten: Beim Umgang mit modifizierter Chromsäure-Lösung ist Vorsicht geboten.**
3. **Die Lösung in der Coplin-Schale sanft durch Verwirbeln mischen und 1 Minute stehen lassen.**
4. **Objektträger 6-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.**
5. **Objektträger 1 Minute lang in Natriumbisulfit-Lösung einlegen.**
6. **Objektträger 6-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.**
7. **20 ml der Silbernitrat-Lösung und 20 ml der Methenamin/Borax-Lösung in einer mit Säure gereinigten Coplin-Schale aus Kunststoff zusammenführen.**
8. **Objektträger in die Lösung einlegen und 45–50 Sekunden lang bei 600 Watt in der Mikrowelle erwärmen.**
9. **Die Lösung in der Coplin-Schale sanft durch Verwirbeln mischen und 2 Minuten stehen lassen.**
10. **Lösung 10 Sekunden lang bei 600 Watt in der Mikrowelle erwärmen.**
11. **Lösung sanft schütteln und mit einer nichtmetallischen Pinzette einen Kontroll-Objektträger entnehmen, zum Spülen in vorgewärmtes entionisiertes Wasser tauchen und unter dem Mikroskop auf Vollständigkeit der Silberanlagerung prüfen. Ggf. Objektträger wieder in die warme Methenamin/Borax-Silbernitrat-Lösung zurücklegen und 10–30 Sekunden verwirbeln.**
12. **Ggf. Schritt 10 und 11 wiederholen, bis eine zufriedenstellende Silberanlagerung zu erkennen ist.**
13. **Objektträger 6-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.**
14. **Objektträger 5 Minuten lang in Goldchlorid-Lösung einlegen.**
15. **Objektträger 3-mal mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.**
16. **Objektträger 2 Minuten lang in Natriumthiosulfat-Lösung einlegen.**
17. **Objektträger 2 Minuten lang gründlich unter fließendem Leitungswasser spülen.**
18. **Objektträger 40 Sekunden lang in Lichtgrün SF einlegen.**
19. **Objektträger kurz mit entionisiertem oder destilliertem Wasser spülen.**
20. **Objektträger 3-mal mit reinem Alkohol entwässern.**
21. **Objektträger 2-mal mit Xylol klären und in ein mit Xylol mischbares Medium eindecken.**

Gebrauchsfertigkeit

Wenn das geeignete Färbeprotokoll ausgewählt und die Badbelegung erstellt ist, das gesamte Reagens in den Reagenzienbehälter gießen. Den Reagenzienbehälter wieder in die entsprechende Station stellen.

Qualitätskontrolle

Ein oder mehrere Qualitätskontroll-Objektträger, die bekanntermaßen Gewebe mit Pilzelementen enthalten und die auf ähnliche Weise wie die Testproben fixiert und verarbeitet wurden, sollten in jedem Färbeassay enthalten sein, um sicherzustellen, dass das GMS-Spezialfärbekit wie vorgesehen funktioniert.

Zu erwartende Ergebnisse

- **Pilze – scharf umgrenzt, schwarz**
- **Innere Anteile von Myzelien und Hyphe – braungrau bis altrosa**
- **Muzin – braungrau bis dunkelgrau**
- **Hintergrund – grün**

Analytische Leistung

Die Leica Biosystems Kits für die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung werden nicht zum Nachweis eines bestimmten Analyten oder Markers verwendet. Diese Produkte dienen dem Nachweis definierter Pilze und Infektionserreger wie *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii und Cryptococcus neoformans* in formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten. Analytische Parameter wie analytische Sensitivität, analytische Spezifität, Richtigkeit (Bias), Präzision (Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit), Genauigkeit (resultierend aus Richtigkeit und Präzision), Nachweis- und

Spezialfärbekit
Modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung

REF 38016SS12

Bestimmungsgrenzen, Messbereich, Linearität, Grenzwert, einschließlich Bestimmung geeigneter Kriterien für die Probenahme und -handhabung und die Kontrolle bekannter relevanter endogener und exogener Interferenzen und Kreuzreaktionen, treffen auf die Leistung dieses Systems nicht zu.

Spezialfärbekit
Modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung

REF 38016SS12

Klinische Leistung

Die Leica Biosystems Kits für die modifizierte Grocott-Methenamin-Silberfärbung sind nicht zur Erkennung einer bestimmten Krankheit oder eines bestimmten pathologischen Prozesses oder Zustands bestimmt. Klinische Leistungsindizes wie diagnostische Sensitivität, diagnostische Spezifität, positiver prädiktiver Wert, negativer prädiktiver Wert, Wahrscheinlichkeitsverhältnis sowie erwartete Werte in normalen und betroffenen Populationen gelten nicht für die Verwendung von Leica Biosystems Bläuungsmitteln in einer klinischen Umgebung.

Entsorgung

Gebrauchte oder abgelaufene Komponenten des GMS-Spezialfärbekits müssen in Übereinstimmung mit den Richtlinien des Unternehmens, Kreises, Landes und Bundes entsorgt werden.

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

Nome prodotto

Kit di colorazione speciale colorazione metenamina argento di Grocott (GMS) modificato.

Uso previsto

Rilevamento/Misurazione

Il kit di colorazione metenamina argento di Grocott (GMS) modificato non rileva né misura analiti o marcatori.

Quando la colorazione metenamina argento di Grocott modificata viene usato con protocolli istologici appropriati può essere utilizzato per la dimostrazione della presenza di determinati funghi e agenti infettivi come *Aspergillus* spp., *Pneumocystis carinii e Cryptococcus neoformans* in sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina.

Funzione del prodotto

I risultati ottenuti con il kit di colorazione speciale GMS non costituiscono evidenze mediche oggettive. La colorazione e il contrasto fornita dal kit di colorazione speciale GMS Leica Biosystems consente la visualizzazione dell'anatomia microscopica nei campioni istologici. Questa visualizzazione, quando interpretata da un professionista esperto, viene usata insieme ad altre informazioni come l'anamnesi, le condizioni fisiche e i risultati di altri esami medici del paziente per fornire una diagnosi medica.

Informazioni specifiche fornite

Il kit GMS Leica Biosystems non è destinato al rilevamento, alla definizione o alla differenziazione di disturbi, condizioni o fattori di rischio specifici. La colorazione mostrata con l'uso di questi prodotti, quando usata come previsto, offre ai professionisti esperti informazioni che possono definire lo stato fisiologico o patologico del campione di tessuto.

Automazione

Il kit di colorazione speciale GMS non è automatizzato ma può essere utilizzato su piattaforme di colorazione automatizzate. L'uso su una piattaforma automatizzata deve essere validato nel punto di utilizzo.

Qualitativo/Quantitativo

Il kit di colorazione speciale GMS Leica Biosystems è un colorante qualitativo.

Tipo di campione

Il kit di colorazione speciale GMS può essere usato con qualunque campione umano o animale incluso in paraffina.

Popolazione di test

Il kit GMS Leica Biosystems è destinato all'uso con qualsiasi paziente che necessiti della valutazione di biopsia o tessuto resecato per l'accertamento di un sospetto di patologia o malattia.

Utilizzatori previsti

Il kit di colorazione speciale GMS è destinato all'uso da parte di personale di laboratorio qualificato e/o dalla persona designata del laboratorio.

Diagnostica *in vitro*

Il kit GMS è destinato esclusivamente alla diagnostica *in vitro*.

Principio di prova

Il meccanismo di azione della colorazione metenamina argento di Grocott modificata si basa sulla capacità dei gruppi aldeidici di ridurre l'argento cationico (Ag+) ad argento metallico. L'acido cromico viene utilizzato per generare gruppi aldeidici tramite l'ossidazione di gruppi 1-2 glicole all'interno di componenti di tessuti ricchi di polisaccaridi come glicogeno, mucina, reticolina e pareti cellulari fungine. Quando l'argento cationico viene aggiunto alla sezione sotto forma di complesso ionico di argento con metenamina, i gruppi aldeidici riducono gli ioni d'argento ad argento metallico. Le sezioni vengono successivamente tonalizzate con la soluzione di cloruro aurico per produrre oro metallico, più stabile rispetto all'argento metallico e produce maggiore contrasto e chiarezza.

A causa del forte potenziale ossidante della soluzione Acido cromico modificato, molti gruppi aldeidici risultanti vengono ulteriormente ossidati trasformandosi in gruppi di acido carbossilico che non riescono a ridurre l'argento. Questa capacità della soluzione Acido cromico modificato ha il vantaggio di ridurre le reazioni di fondo del collagene e delle membrane basali e produce una forte impregnazione con l'argento solo in quelle strutture che possiedono livelli elevati dei gruppi reattivi di polisaccaridi come il glicogeno, la mucina e le pareti cellulari fungine.

Calibratori e controlli

Il kit GMS non richiede l'uso di calibratori o controlli.

Limitazioni dei reagenti

Nessuna limitazione dei reagenti è applicabile a questo prodotto.

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

Prodotti pertinenti

Codice prodotto	Descrizione dei materiali
38016SS12	Kit di colorazione speciale colorazione metenamina argento di Grocott (GMS) modificato
38016SS12A	Soluzione Acido cromico modificato, 500 ml
38016SS12B	Soluzione di sodio bisolfito, 500 ml
38016SS12C	Soluzione di nitrato d'argento, 250 ml
38016SS12D	Soluzione di metenamina/borace, 250 ml (A)
38016SS12E	Soluzione di cloruro aurico, 500 ml
38016SS12F	Soluzione di tiosolfato di sodio, 500 ml
38016SS12G	Verde chiaro SF, 500 ml

Nota: (A). La soluzione refrigerata di metenamina/borace (prodotto No. 38016SS12D, 250 ml) non è compresa nel kit GMS. Il prodotto deve essere ordinato separatamene e verrà spedito separatamente.

Materiali non inclusi

Il protocollo del kit di colorazione speciale GMS richiede l'uso di alcol graduati, xilene o sostituti dello xilene, acqua deionizzata o distillata. I vetrini di controllo positivi con tessuto con elementi fungini (non inclusi in questo kit), devono essere inclusi in ogni ciclo.

Dispositivi richiesti

Il kit di colorazione speciale GMS Leica Biosystems può essere utilizzato su qualsiasi piattaforma di colorazione automatizzata o con un metodo di colorazione manuale.

Conservazione e stabilità

Le soluzione di metenamina/borace deve essere conservata a 2-8 °C (36-46 °F). Conservare gli altri componenti temperatura ambiente 15–30 °C (59–86 °F).
ATTENZIONE: Non utilizzare oltre la data di scadenza.

Stabilità durante l'uso

L'utilizzatore deve esercitare la propria discrezione al momento di determinare la stabilità durante l'uso.

Sterilità

I componenti del kit di colorazione speciale GMS non sono prodotti sterili.

Avvertenze/Precauzioni

Devono essere seguite le normali precauzioni esercitate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti osservando tutte le normative locali, statali, provinciali o nazionali. Consultare la scheda di sicurezza del materiale e le etichette del prodotto per informazioni aggiornate sui rischi, sui pericoli o sulla sicurezza Informazioni.

Stato infettivo del materiale

Il kit di colorazione speciale GMS non contiene materiali infettivi. Tuttavia, maneggiare i campioni (prima e dopo la fissazione) e tutti i materiali entrati in contatto con i campioni come se fossero in grado di trasmettere infezioni e smaltirli attenendosi alle corrette precauzioni e secondo le linee guida del laboratorio.

Strutture speciali

Il kit di colorazione speciale GMS deve essere usato secondo le linee guida della struttura.

Manipolazione del campione

I fissativi suggeriti includono la formalina neutra tamponata al 10%. Disidratazione di routine, chiarificazione, infiltrazione e inclusione di paraffina e preparazione di routine di sezioni al microtomo. Una qualità inadeguata di fissazione, trattamento, reidratazione e sezionamento influisce negativamente sulla qualità della colorazione. Dopo il trattamento e l'inclusione in paraffina, tagliare sezioni di 4-6 micron.

Preparazione per l'uso

Prima della colorazione, posizionare 20 ml della soluzione di metenamina/borace e 20 ml della soluzione di nitrato d'argento in becher separati e puliti con acidi. Riscaldare le soluzioni a 50-55 °C e appena prima dell'impregnazione dell'argento combinare le due soluzioni in un vaso Coplin lavato con acidi.

Note:

- **Le soluzioni possono essere riscaldate utilizzando un bagno termostatico o il forno del laboratorio. Evitare il surriscaldamento, in quanto la rottura della metenamina accelera a temperature sopra i 50 °C.**

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

- **Preriscaldare un secondo vaso Coplin con 40 ml di acqua deionizzata o distillata a 50-55 °C da utilizzare come risciacquo.**

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

Indicazioni per l'uso

Protocollo di colorazione convenzionale

1. Rimuovere la paraffina dalle sezioni di tessuto con xilene e reidratare mediante alcol graduati in acqua deionizzata o distillata.
2. Collocare i vetrini nella soluzione Acido cromico modificato per 5-10 minuti a temperatura ambiente.
   Attenzione: Prestare attenzione quando si maneggia la soluzione Acido cromico modificato.
3. Risciacquare i vetrini in due cambi di acqua corrente.
4. Risciacquare i vetrini in due cambi di acqua deionizzata o distillata.
5. Posizionare i vetrini nella soluzione di sodio bisolfito per 1 minuto.
6. Risciacquare i vetrini con acqua corrente per 30 secondi.
7. Risciacquare i vetrini in due cambi di acqua deionizzata o distillata.
8. Combinare le soluzioni preriscaldate di nitrato d'argento e di metenamina/borace in un vaso Coplin preriscaldato e pulito con acido.
9. Posizionare i vetrini nella soluzione di metenamina/borace-nitrato d'argento e incubare per 20-45 minuti a 50-55 °C.
   Dopo 15-20 minuti, utilizzando pinze non metalliche, rimuovere un vetrino di controllo, immergerlo nell'acqua deionizzata preriscaldata per risciacquarlo e controllare al microscopio la completezza del deposito d'argento.
10. Risciacquare i vetrini in 6 cambi di acqua deionizzata o distillata.
11. Posizionare i vetrini nella soluzione di cloruro aurico per 5 minuti.
12. Risciacquare i vetrini in 3 cambi di acqua deionizzata o distillata.
13. Posizionare i vetrini nella soluzione di tiosolfato di sodio per 2 minuti.
14. Risciacquare accuratamente i vetrini in acqua corrente per 2 minuti.
15. Posizionare i vetrini nel verde chiaro SF per 40 secondi.
16. Risciacquare brevemente i vetrini in acqua deionizzata o distillata.
17. Deidratare i vetrini in tre cambi di alcol assoluto.
18. Chiarificare i vetrini con due cambi di xilene e montare in un mezzo miscibile con xilene.

Tabella 1. Esempio di protocollo convenzionale di colorazione del kit di colorazione speciale GMS.

Passaggi	Azione	Sostanza chimica	Tempo (mm:ss)
1-3	Rimuovere la paraffina	Xilene	3:00
4-5	Idratazione	Alcol al 100%	2:00
6	Idratazione	Alcol all'80% o al 95%	1:00
7	Idratazione	Acqua deionizzata	1:00
8	Colorazione	Soluzione Acido cromico modificato	5:00-10:00
9-10	Lavaggio	Acqua corrente	0:30
11-12	Risciacquare	Acqua deionizzata	0:10
13	Neutralizzare	Soluzione di sodio bisolfito	1:00
14	Risciacquare	Acqua corrente	0:30
15-16	Risciacquare	Acqua deionizzata	0:10
17	Colorazione/ Impregnazione	Soluzione di metenamina/borace-nitrato d'argento	20:00-45:00 a 50–55 °C
18-23	Risciacquare	Acqua deionizzata	0:10
24	Disidratazione	Soluzione di cloruro aurico	5:00
25-27	Risciacquare	Acqua deionizzata	0:10
28	Colorazione	Soluzione di tiosolfato di sodio	2:00
29	Risciacquare	Acqua corrente	2:00
30	Colore di contrasto	Verde chiaro SF	0:40
31	Risciacquare	Acqua deionizzata	0:30
32-34	Disidratazione	Alcol al 100%	2:00
35-36	Chiarificazione	Xilene	2:00

Nota: Quando si usa un sostituto dello xilene, aumentare i tempi di immersione di circa il 50%.

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

Protocollo di colorazione a microonde

Prestare attenzione quando si usa il microonde per riscaldare soluzioni o reagenti. Il microonde deve essere adeguatamente ventilato per evitare l'accumulo di fumi nel laboratorio. Durante il processo di colorazione è necessario usare vasi Coplin trasparenti e tappi per microonde. I tappi devono essere applicati senza stringere per evitare fuoriuscite. Possono essere usati anche tappi con fori di ventilazione. Tutti i microonde devono essere usati secondo le istruzioni del produttore.

1. **Rimuovere la paraffina dalle sezioni di tessuto con xilene e reidratare mediante alcol graduati in acqua deionizzata o distillata.**
2. **Collocare i vetrini nella soluzione Acido cromico modificato e mettere nel microonde a 800 watt per 10 secondi. Attenzione: Prestare attenzione quando si maneggia la soluzione Acido cromico modificato.**
3. **Mescolare delicatamente la soluzione agitando il vaso Coplin e lasciare riposare per 1 minuto.**
4. **Risciacquare i vetrini in 6 cambi di acqua deionizzata o distillata.**
5. **Posizionare i vetrini nella soluzione di sodio bisolfito per 1 minuto.**
6. **Risciacquare i vetrini in 6 cambi di acqua deionizzata o distillata.**
7. **Combinare 20 ml della soluzione di nitrato d'argento e 20 ml della soluzione di metenamina/borace in un vaso Coplin di plastica pulito con acido.**
8. **Posizionare i vetrini nella soluzione e mettere nel forno a microonde a 600 watt per 45-50 secondi.**
9. **Mescolare delicatamente la soluzione agitando il vaso Coplin e lasciare riposare per 2 minuti.**
10. **Mettere la soluzione nel forno a microonde per 10 secondi a 600 watt.**
11. **Agitare delicatamente la soluzione e utilizzando pinze non metalliche rimuovere un vetrino di controllo, immergerlo nell'acqua deionizzata preriscaldata per risciacquarlo e controllare al microscopio la completezza dell'impregnazione dell'argento. Se necessario, riposizionare i vetrini nella soluzione di metenamina/borace-nitrato d'argento riscaldata e mescolare per 10-30 secondi.**
12. **Se necessario, ripetere le fasi 10 e 11 fino all'osservazione di un livello soddisfacente di deposito d'argento.**
13. **Risciacquare i vetrini in 6 cambi di acqua deionizzata o distillata.**
14. **Posizionare i vetrini nella soluzione di cloruro aurico per 5 minuti.**
15. **Risciacquare i vetrini in 3 cambi di acqua deionizzata o distillata.**
16. **Posizionare i vetrini nella soluzione di tiosolfato di sodio per 2 minuti.**
17. **Risciacquare accuratamente i vetrini in acqua corrente per 2 minuti.**
18. **Posizionare i vetrini nel verde chiaro SF per 40 secondi.**
19. **Risciacquare brevemente i vetrini in acqua deionizzata o distillata.**
20. **Deidratare i vetrini in 3 cambi di alcol assoluto.**
21. **Chiarificare i vetrini con 2 cambi di xilene e montare in un mezzo miscibile con xilene.**

Pronto all'uso

Dopo aver scelto il protocollo di colorazione adeguato e aver creato il layout del bagno, versare tutto il reagente nel contenitore per il reagente. Riposizionare il contenitore per il reagente nella rispettiva stazione.

Controllo di qualità

Uno o più vetrini di controllo con tessuto con elementi fungini, fissati e processati in maniera simile ai campioni del test, dovrebbero essere inclusi in ogni saggio di colorazione per assicurare che le prestazioni del kit di colorazione speciale GMS siano quelle previste.

Risultati attesi

- **Funghi - nero chiaramente delineato**
- **Parti interne di miceli e ifa - da grigio talpa a rosa antico**
- **Mucina - da grigio talpa a grigio scuro**
- **Fondo – verde**

Prestazioni analitiche

I kit di colorazione metenamina argento di Grocott modificati Leica Biosystems non rilevano analiti o marcatori specifici. Questi prodotti sono utilizzati per la dimostrazione della presenza di determinati funghi e agenti infettivi come *Aspergillus spp., Pneumocystis carinii e Cryptococcus neoformans* in sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina. I parametri analitici quali sensitività e specificità analitica, veridicità (bias), precisione (ripetibilità e riproducibilità), accuratezza (risultante da veridicità e precisione), limiti di rilevamento e quantificazione, range di misurazione, linearità, interruzione, inclusa la determinazione di criteri appropriati per la raccolta di campioni, la gestione e il controllo di interferenze note rilevanti endogene ed esogene e le reazioni incrociate non si applicano alle prestazioni del sistema.

Kit di colorazione speciale
Colorazione metenamina argento di Grocott modificata

REF 38016SS12

Prestazioni cliniche

I kit di colorazione metenamina argento di Grocott modificati Leica Biosystems non sono progettati per l'uso come mezzo di rilevamento di una malattia o processi/stati patologici specifici. Gli indici di prestazioni cliniche come sensibilità e specificità diagnostica, valore predittivo positivo o negativo, probabilità e valori attesi in popolazioni normali e affette non si applicano all'uso dei coloranti blu Leica Biosystems in un ambiente clinico.

Smaltimento

I componenti usati o scaduti del kit di colorazione speciale GMS devono essere smaltiti secondo la normativa dell'organizzazione, locale, nazionale e comunitaria.

特殊染色キット
改良型グロコット・メセナミン銀染色

REF 38016SS12

製品名

改良型グロコット・メセナミン銀染色（**GMS**）特殊染色キット。

用途

検出/測定

改良型グロコット・メセナミン銀染色（**GMS**）キットは、分析物やマーカーを検出または測定しません。

改良型グロコット・メセナミン銀染色は、適切な組織学的プロトコルに従って使用すると、ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片中の、定義された真菌および*アスペルギルス*属、*ニューモシスチスカリニ*、*クリプトコッカス・ネオフォルマンス*などの感染症病原体の実証に使用できます。

製品機能

GMS特殊染色キットを使用して得た結果は、客観的な医学的証拠とはなりません。**Leica Biosystems GMS**特殊染色キットは、組織標本の着色とコントラストを利用して、顕微解剖学的構造を視覚化します。この視覚化は、トレーニングを受けた専門家によって解釈され、患者の病歴や状態、その他の医療検査の結果などの情報とともに医学的診断に利用されます。

提供される特定情報

Leica Biosystems製**GMS**キットは、特定の疾患、状態、またはリスク要因の検出、定義、識別を目的とはしていません。トレーニングを受けた専門家は、想定どおりにこれら製品を使用して得られた染色により、組織標本の生理学的または病理学的状態を明らかにできます。

オートメーション

GMS特殊染色キットは自動化されていませんが、自動染色プラットフォームで使用できます。自動プラットフォームでの使用は、使用される場所で検証する必要があります。

定性的／定量的

Leica Biosystems GMS特殊染色キットは、定性的染色法です。

標本の種類

GMS特殊染色キットは、パラフィン包埋されたヒトまたは動物のあらゆる標本に使用できます。

テストの母集団

Leica Biosystems製**GMS**キットは、疑いのある病理や疾患の評価のために、生検または切除組織の検査を要するあらゆる患者に使用することを目的としています。

対象ユーザー

GMS特殊染色キットは、有資格の検査室担当者および／または検査室の被指名人が使用することを目的としています。

***In Vitro* 診断**

GMSキットは、***In Vitro*** 診断用としてのみご使用いただけます。

テスト原理

改良型グロコット・メセナミン銀染色の作用機序は、カチオン性銀（**Ag+**）を金属性銀に還元するアルデヒド基の能力に基づいています。クロム酸は、グリコーゲン、ムチン、細網線維、菌類の細胞壁など、多糖類を多く含む組織成分の**1～2**個のグリコール基を酸化してアルデヒド基を生成するのに使用されます。カチオン性銀がメセナミン-銀イオン錯体の形でセクションに追加されると、アルデヒド基は銀イオンを金属性銀に還元します。その後、セクションは塩化金溶液で調色され、金属性銀よりも安定した金属性金が生成され、優れたコントラストと透明度が生み出されます。

改良型クロム酸溶液は酸化力が強いため、生成したアルデヒド基の多くはさらに酸化され、銀を還元できないカルボン酸基になります。改良型クロム酸溶液は、コラーゲンや基底膜のバックグラウンド反応を抑え、グリコーゲン、ムチン、菌類の細胞壁などの反応性多糖類を多く含む構造物のみに銀を強く含浸させることができるという利点があります。

キャリブレーターおよびコントロール

GMSキットには、キャリブレーターやコントロールを使用する必要はありません。

試薬の制限

この製品に試薬の制限はありません。

対応製品

製品コード	材質の説明
38016SS12	改良型グロコット・メセナミン銀染色（**GMS**）特殊染色キット
38016SS12A	改良型クロム酸溶液、**500** ml
38016SS12B	重亜硫酸ナトリウム溶液、**500 ml**
38016SS12C	硝酸銀溶液、**250 ml**
38016SS12D	メセナミン／ホウ砂溶液、**250 ml**（**A**）
38016SS12E	塩化金溶液、**500 ml**
38016SS12F	チオ硫酸ナトリウム溶液、**500 ml**
38016SS12G	ライトグリーン**SF**、**500 ml**

特殊染色キット
改良型グロコット・メセナミン銀染色

REF 38016SS12

注記：(A). 冷蔵メセナミン／ホウ砂溶液（アイテム番号38016SS12D、250 ml）はGMSキットに含まれていません。
アイテムは個別に発注してください。製品は個別に発送されます。

含まれていないもの

GMS特殊染色キットのプロトコールには、段階的アルコール、キシレンまたはキシレン代替品、脱イオン水または蒸留水を使用する必要があります。真菌要素を含むことが分かっている組織（本キットには含まれていません）の陽性コントロールスライドを、染色作業ごとに含める必要があります。

必要なデバイス

Leica Biosystems製**GMS**特殊染色キットは、自動化された染色プラットフォームまたは用手染色法で使用することができます。

保管と安定性

メセナミン／ホウ砂溶液は、**2～8 °C**（**36～46 °F**）で保存してください。その他のコンポーネントは、室温**15～30 °C**（**59～86 °F**）で保管してください。
注意：使用期限を過ぎたものは、使用しないでください。

使用中の安定性

使用時の安定性を判断する際はユーザーが自らの裁量で行う必要があります。

滅菌性

GMS特殊染色キットのコンポーネントは滅菌製品ではありません。

警告と注意

研究用試薬を取り扱う際の通常の注意事項に従ってください。自治体および国の規制に従って廃棄物を処理してください。リスク、危険有害性または安全性等の更新情報については、製品安全データシートおよび製品のラベル表示を参照してください。

感染性物質のステータス

GMS特殊染色キットには感染性物質は含まれていません。ただし、固定化の前と後の標本およびその標本に曝されたすべての物質は、感染を伝播するものとして取り扱い、施設のガイドラインに従って適切な予防措置を講じて廃棄してください。

特別施設

GMS特殊染色キットは、施設のガイドラインに従って使用してください。

標本の取扱い

推奨される固定剤は**10%**中性緩衝ホルマリンが含まれます。規定の脱水、透徹、パラフィン浸潤、包埋作業、そして規定ミクロトーム切片作成。不十分な固定や処理、再水和、切片作成は、染色の質に悪影響を及ぼします。処理とパラフィン包埋の後、切片を**4～6**ミクロンにカットします。

使用の準備

染色前に、メセナミン／ホウ砂溶液**20 ml**と硝酸銀溶液**20 ml**を酸で洗浄した別々のビーカーに入れます。溶液を**50～55 °C**に加熱し、銀を含浸させる直前に、酸で洗浄した**Coplin**ジャーで**2**つの溶液を混ぜ合わせます。

注記：

- 溶液は、水浴または実験用オーブンを使用して加熱できます。**50 °C** を超える温度ではメセナミンの分解が促進されるため、加熱しすぎないようにしてください。
- **2** つ目の **Coplin** ジャーに **40 ml** の脱イオン水または蒸留水を入れて **50～55 °C** に予熱し、すすぎに使用します。

使用方法

従来の染色プロトコール

1. 組織切片をキシレンで脱パラフィンし、アルコール濃度を段階的に下げてから脱イオン水または蒸留水で再水和します。
2. スライドを改良型クロム酸溶液に室温で**5～10**分間浸します。
   注記：改良型クロム酸溶液の取り扱いには注意してください。
3. スライドを**2**回に分けて水道水ですすぎます。
4. 脱イオン水または蒸留水を**2**回交換してスライドをすすぎます。
5. スライドを重亜硫酸ナトリウム溶液に**1**分間浸します。
6. スライドを水道水で**30**秒間すすぎます。
7. 脱イオン水または蒸留水を**2**回交換してスライドをすすぎます。
8. 予熱した硝酸銀溶液とメセナミン／ホウ砂溶液を、酸洗浄を施してある予熱した**Coplin**ジャーに入れます。
9. スライドをメセナミン／ホウ砂ー硝酸銀溶液に浸し、**50～55 °C**で**20～45**分間インキュベートします。**15～20**分後、非金属鉗子でコントロールスライドを取り外し、予熱した脱イオン水に浸してすすぎ、銀の沈着が完全かどうかを顕微鏡で確認します。
10. 脱イオン水または蒸留水を**6**回交換してスライドをすすぎます。
11. スライドを塩化金溶液に**5**分間浸します。
12. 脱イオン水または蒸留水を**3**回交換してスライドをすすぎます。
13. スライドをチオ硫酸ナトリウム溶液に**2**分間浸します。
14. 水道の流水で**2**分間かけてスライドを十分にすすぎます。
15. スライドをライトグリーン**SF**に**40**秒間浸します。
16. スライドを脱イオン水または蒸留水で簡単にすすぎます。
17. 無水アルコールを**3**回交換してスライドを脱水します。
18. キシレンを**2**回交換してスライドを透徹し、キシレン混合溶剤で封入します。

特殊染色キット
改良型グロコット・メセナミン銀染色

REF 38016SS12

表1. 従来のGMS特殊染色キット染色プロトコルの例。

ステップ	アクション	化学物質	時間（分:秒）
1～3	脱パラフィン	キシレン	3:00
4～5	水和	100%アルコール	2:00
6	水和	80%または95%アルコール	1:00
7	水和	脱イオン水	1:00
8	染色	改良型クロム酸溶液	5:00～10:00
9～10	洗浄	水道水	0:30
11～12	すすぎ	脱イオン水	0:10
13	中和	重亜硫酸ナトリウム溶液	1:00
14	すすぎ	水道の流水	0:30
15～16	すすぎ	脱イオン水	0:10
17	染色／含浸	メセナミン／ホウ砂ー硝酸銀溶液	20:00～45:00@50～55 °C
18～23	すすぎ	脱イオン水	0:10
24	脱水	塩化金溶液	5:00
25～27	すすぎ	脱イオン水	0:10
28	染色	チオ硫酸ナトリウム溶液	2:00
29	すすぎ	水道の流水	2:00
30	対比染色	ライトグリーンSF	0:40
31	すすぎ	脱イオン水	0:30
32～34	脱水	100%アルコール	2:00
35～36	透徹	キシレン	2:00

注記：キシレン代替品を使用する際は、浸漬時間を約50%延長してください。

電子レンジによる染色プロトコール

電子レンジを使って溶液や試薬を加熱する際は、注意を払ってください。電子レンジは、実験室に蒸気が蓄積しないようにするため、必ず適切に換気してください。染色の際は、電子レンジ用の透明なCoplinジャーとキャップを使用してください。キャップは、液こぼれを防ぐためゆるくはめてください。通気孔付きのキャップも使用できます。電子レンジを使用する際は必ず、製造元の指示に従ってください。

1. 組織切片をキシレンで脱パラフィンし、アルコール濃度を段階的に下げてから脱イオン水または蒸留水で再水和します。
2. スライドを改良型クロム酸溶液に浸し、800ワットで10秒間電子レンジで加熱します。
   注記：改良型クロム酸溶液の取り扱いには注意してください。
3. Coplinジャーを旋回させて穏やかに混ぜ、1分間放置します。
4. 脱イオン水または蒸留水を6回交換してスライドをすすぎます。
5. スライドを重亜硫酸ナトリウム溶液に1分間浸します。
6. 脱イオン水または蒸留水を6回交換してスライドをすすぎます。
7. 20 mlの硝酸銀溶液と20 mlのメセナミン／ホウ砂溶液を酸で洗浄したプラスチック製のCoplinジャーに入れます。
8. スライドを溶液に浸し、600ワットで45～50秒間電子レンジで加熱します。
9. Coplinジャーを旋回させて穏やかに混ぜ、2分間放置します。
10. 溶液を600ワットで10秒間電子レンジ加熱する。
11. 溶液を穏やかに攪拌し、非金属鉗子を使ってコントロールスライドを取り出し、予熱した脱イオン水に浸してすすぎ、銀の含浸が完全かどうかを顕微鏡で確認します。必要に応じて、スライドを温かいメセナミン／ホウ砂硝酸銀溶液に入れ替え、10～30秒間旋回します。
12. 必要に応じて、満足のいくレベルの銀の沈着が観察されるまでステップ10と11を繰り返します。
13. 脱イオン水または蒸留水を6回交換してスライドをすすぎます。
14. スライドを塩化金溶液に5分間浸します。
15. 脱イオン水または蒸留水を3回交換してスライドをすすぎます。
16. スライドをチオ硫酸ナトリウム溶液に2分間浸します。
17. 水道の流水で2分間かけてスライドを十分にすすぎます。
18. スライドをライトグリーンSFに40秒間浸します。

特殊染色キット
改良型グロコット・メセナミン銀染色

REF 38016SS12

19. スライドを脱イオン水または蒸留水で簡単にすすぎます。
20. 無水アルコールを3回交換してスライドを脱水します。
21. キシレンを2回交換してスライドを透徹し、キシレン混合溶剤で封入します。

使用の準備

適切な染色プロトコールを選択し、染色槽の配置を終えたら、すべての試薬を試薬容器に注ぎ入れる。試薬容器をそれぞれのステーションに戻します。

品質管理

GMS特殊染色キットが目的通りに機能していることを確認するために、各染色試験には、試験標本と同様の方法で固定および処理された、真菌要素を含むことがわかっている組織の品質管理用スライドを含める必要があります。

予測される結果

- 菌類－黒くはっきりとした輪郭
- 菌糸と菌体の内部－灰褐色～オールドローズ色
- ムチン－灰褐色～濃い灰色
- 背景－緑色

分析性能

Leica Biosystems製改良型グロコット・メセナミン銀染色キットは、特定の分析物やマーカーの検出には使用されません。これらの製品は、ホルマリン固定パラフィン包埋組織切片中の、定義された真菌および*アスペルギルス属*、*ニューモシスチスカリニ*、*クリプトコッカス・ネオフォルマンス*などの感染症病原体の実証に使用されます。試料収集ならびに既知の関連する内因性および外因性干渉の取り扱いおよび制御の適切な基準の決定、交差感染を含む、分析感度や分析特異性、正しさ（バイアス）、精度（反復性および再現性）、正確性（正しさおよび精度からの結果）、検知および定量化の限度、測定範囲、線形性、カットオフなどの分析パラメータは、本システムの性能には適用されません。

臨床性能

Leica Biosystems製改良型グロコット・メセナミン銀染色キットは、特定の疾患または病理学的プロセスまたは状態を検出する手段として使用することを目的とはしていません。診断感度、診断特異性、陽性的中率、陰性的中率、尤度比だけでなく、正常な母集団や影響を受けた母集団の期待値などの臨床性能指標は、臨床設定での**Leica Biosystems**製青み剤の使用には適用されません。

廃棄

GMS特殊染色キットの使用済みまたは期限切れのコンポーネントは、施設、地域、州、および国の規制に従って廃棄してください。

특수 염색 키트
변형 그로코트 메테나민 은 염색

REF 38016SS12

제품명

변형 그로코트 메테나민 은 염색**(GMS)** 특수 염색 키트.

용도

검출/측정

변형 그로코트 메테나민 은 염색**(GMS)** 키트는 분석물이나 표지자를 검출하거나 측정하지 않습니다.
변형 그로코트 메테나민 은 염색은 적절한 조직학적 프로토콜과 병용되는 경우, 포르말린으로 고정되고 파라핀으로 포매된 조직 절편에서 아스페르길루스 종**(*Aspergillus sp.*)**, 폐포자충**(*Pneumocystis carinii*)** 및 크립토코커스 네오포르만스**(*Cryptococcus neoformans*)** 등의 정의된 진균 또는 감염원을 드러내는 데 사용될 수 있습니다.

제품 기능

Leica Biosystems GMS 특수 염색 키트를 사용하여 얻은 결과는 객관적인 의료 증거를 제공하지 않습니다. **Leica Biosystems GMS** 특수 염색 키트가 조직학적 검체에 대해 제공하는 착색 및 대비 기능을 활용하면 미세한 해부학적 구조를 시각화할 수 있습니다. 이러한 시각화는 숙련된 전문가를 통해 해석될 경우 환자의 병력, 건강 상태 등과 같은 다른 정보 및 기타 건강 검진을 통해 얻은 결과와 함께 활용되어 의료 진단을 내릴 수 있게 합니다.

특정 정보 제공

Leica Biosystems GMS 키트는 특정 질환, 상태 또는 위험 인자에 대한 검출, 정의 또는 분별을 위한 용도가 아닙니다. 의도한 용도대로 사용되는 경우 이러한 제품의 사용 결과로 나타나는 염색을 통해 숙련된 전문가에게 조직 검체에 대한 생리학적 또는 병리적인 상태를 정의할 수 있는 정보가 제공됩니다.

자동화

GMS 특수 염색 키트는 자동화되지 않았지만 자동화된 염색 플랫폼에서 사용할 수 있습니다. 사용 시점에 자동 플랫폼에서의 사용을 검증을 해야 합니다.

정성검사/정량검사

Leica Biosystems GMS 특수 염색 키트는 정성적 염료입니다.

검체 종류

GMS 특수 염료 키트는 파라핀 포매된 인간 또는 동물 검체에 사용할 수 있습니다.

검사 모집단

Leica Biosystems GMS 키트는 의심이 가는 병리 또는 질환에 관한 평가를 위해 생검 또는 절제 조직에 대한 평가를 필요로 하는 모든 환자에게 사용하도록 고안되었습니다.

의도된 사용자

GMS 특수 염색 키트는 자격을 갖춘 실험실 직원 및/또는 실험실의 지정인이 사용하도록 고안되었습니다.

체외 진단

GMS 키트는 체외 진단용으로만 사용해야 합니다.

검사 원리

변형 그로코트 메테나민 은 염색의 기능 원리는, 알데하이드기의 양이온 은**(Ag+)**를 금속 은으로 환원하는 능력을 기반으로 합니다. 크롬산은, 다당류가 풍부한 조직 요소**(**예: 글리코겐, 뮤신, 레티쿨린 및 진균 세포벽**)** 내에 있는 **1-2** 글라이콜 그룹의 산화를 통해 알데하이드기를 생성하는 데 사용됩니다. 양이온 은이 메테나민-은 이온 복합체의 형태로 절편에 더해지는 경우, 알데하이드기가 양이온 은을 금속 은으로 환원시킵니다. 그 후, 절편은 염화금 용액과 조화되어 금속 금을 생성하며, 이는 금속 은보다 안정적이고 매우 우수한 대조와 선명도를 제공합니다.
결과적으로 생긴 알데하이드기 중의 다수는, 변형 크롬산 용액의 강도가 높은 산화 전위로 인하여 카르복실산기 그룹으로 더욱 산화되며, 이는 은을 환원시킬 수 없습니다. 이 변형 크롬산 용액의 능력은, 배경적으로 일어나는 콜라겐 및 기저막의 반응을 감소시키고, 높은 레벨의 반응성 다당류 그룹**(**예: 글리코겐, 뮤신 및 진균 세포벽**)**을 함유한 구조물에 한해서만 강한 함침을 유발한다는 장점이 있습니다.

보정물질 및 대조물질

GMS 키트에는 보정물질이나 대조물질을 사용할 필요가 없습니다.

시약 제한 사항

이 제품에 적용될 수 있는 시약 제한 사항은 없습니다.

특수 염색 키트
변형 그로코트 메테나민 은 염색

REF 38016SS12

해당 제품

제품 코드	물질 설명
38016SS12	변형 그로코트 메테나민 은 염색**(GMS)** 특수 염색 키트
38016SS12A	변형 크롬산 용액**, 500 ml**
38016SS12B	아황산수소나트륨 용액**, 500 ml**
38016SS12C	질산은 용액**, 250 ml**
38016SS12D	메테나민**/**붕사 용액**, 250 ml(A)**
38016SS12E	염화금 용액**, 500 ml**
38016SS12F	티오황산나트륨 용액**, 500 ml**
38016SS12G	라이트 그린 **SF, 500 ml**

참고: (A). 냉장된 메테나민/붕사 용액(항목 번호 38016SS12D, 250 ml)은 GMS 키트에 포함되지 않았습니다.
물품은 별도로 주문되어야 하며 별도로 수송됩니다.

미포함 물질

GMS 특수 염색 키트 프로토콜은 농도차가 있는 알코올**(graded alcohol),** 자일렌이나 자일렌 대체 물질**,** 탈이온수 또는 증류수를 사용해야 합니다. 매 실행 시**,** 진균 성분이 들어있는 것이 확인된 조직을 사용한 양성 대조물질 슬라이드**(**이 키트에 포함되지 않음**)**를 포함시켜야 합니다.

필요 장치

Leica Biosystems GMS 특수 염색 키트는 모든 자동 염색 플랫폼 또는 수동 염색법에 사용될 수 있습니다.

보관 및 안정성

메테나민**/**붕사 용액은 **2~8 °C(36~46 °F)**에서 보관되어야 합니다. 다른 구성요소는 **15~30 °C(59~86 °F)**의 실온에서 보관하십시오.
주의**:** 유효 기간 이후에는 사용하지 마십시오.

사용 안정성

사용 안정성은 사용자 재량으로 판별해야 합니다.

무균 상태

GMS 특수 염색 키트 구성요소는 무균 제품이 아닙니다.

경고/주의 사항

실험실 시약 취급 시 수행하는 일반 주의 사항을 따라야 합니다. 모든 현지**,** 지방**,** 도**,** 또는 국가 규정을 준수하여 폐기물을 폐기하십시오. 업데이트된 위험**,** 유해성 또는 안전성 정보는 물질 안전 보건 자료**(Material Safety Data Sheet)** 및 제품 라벨을 참조하십시오.

감염 물질 상태

GMS 특수 염색 키트에는 감염성 물질이 포함되어 있지 않습니다. 하지만 고정 작업 전과 후에 검체 및 이에 노출된 모든 물질은 감염 상태를 옮길 수 있다는 가정 하에 취급해야 하며**,** 시설 지침에 따라 적절한 예방 조치를 바탕으로 폐기해야 합니다.

특수 설비

GMS 특수 염색 키트는 시설 지침에 따라 사용해야 합니다.

검체 처리

제안된 고정액은 중성 완충 포르말린 **10%**가 함유되어 있습니다. 일반 탈수**,** 투명 처리 및 파라핀 침윤 및 포매**,** 그리고 일반적인 마이크로톰 절편 준비. 부적절한 고정**,** 처리**,** 재수화 및 절편은 염색질에 부정적인 영향을 미칩니다. 가공 및 파라핀 포매 작업 후**, 4~6**마이크론으로 단면을 절단합니다.

사용 준비

염색 전**, 20 ml**의 메테나민**/**붕사 용액 및 **20 ml**의 질산은 용액을 각각 다른 깨끗한 비이커에 담습니다. 용액들을 **50~55 °C**까지 가열한 후**,** 은 함침 직전에 두 용액을 산처리된 코플린 자**(Coplin jar)**에 결합합니다.

참고:

- 용액들은 수조 또는 실험실용 오븐**(laboratory oven)**을 사용하여 가열할 수 있습니다. 메테나민의 파괴는 **50 °C** 이상의 온도에서 가속화하므로**,** 과열을 피하십시오.
- 헹굼 용도로 사용될 탈이온수 또는 증류수 **40 ml** 를 담은 두 번째 코플린 자**(Coplin jar)**를 **50~55 °C** 로 예열합니다.

특수 염색 키트
변형 그로코트 메테나민 은 염색

REF 38016SS12

사용 방법

일반 염색 프로토콜

1. 자일렌으로 절편에서 파라핀을 제거한 후, 농도차가 있는 알코올**(graded alcohol),** 그 다음 탈이온수로 또는 증류수를 사용하여 재수화합니다.
2. 슬라이드를 실온에서 **5~10**분간 변형 크롬산 용액에 넣어 둡니다.
   다음을 유의하십시오. 변형 크롬산 용액을 다룰 시 주의를 기울이십시오.
3. 슬라이드를 두 번 수돗물에 헹굽니다.
4. 슬라이드를 두 번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
5. 슬라이드를 황산수소나트륨 용액에 **1**분간 배치합니다.
6. 슬라이드를 흐르는 수돗물에 **30**초간 헹굽니다.
7. 슬라이드를 두 번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
8. 따뜻하게 예열된 질산은 용액 및 메테나민/붕사 용액을 따뜻하게 예열되고 산처리된 코플린 자**(Coplin jar)**에 결합합니다.
9. 슬라이드를 메테나민/붕사 용액에 넣고 **20~45**분간 **50~55 °C**에서 배양합니다. **15~20**분 후, 비금속성 겸자를 사용하여 대조 슬라이드를 꺼내어, 헹굼을 위해 따뜻하게 예열된 탈이온수에 담근 뒤, 은 퇴적물의 완전성을 현미경으로 확인합니다.
10. 슬라이드를 **6**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
11. 슬라이드를 염화금 용액에 **5**분간 배치합니다.
12. 슬라이드를 **3**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
13. 슬라이드를 티오황산나트륨 용액에 **2**분간 배치합니다.
14. 슬라이드를 흐르는 수돗물로 **2**분간 철저히 헹굽니다.
15. 슬라이드를 라이트 그린 **SF**에 **40**초간 배치합니다.
16. 슬라이드를 탈이온수 또는 증류수에 잠깐 헹굽니다.
17. 슬라이드를 세 번 무수 알코올에 탈수합니다.
18. 슬라이드를 두 번 자일렌으로 투명화한 후 자일렌과 섞이는 배지에 중첩합니다.

표 **1.** 일반적인 **GMS** 특수 염색 키트 염색 프로토콜의 예.

단계	작업	화학물질	시간**(**분:초**)**
1~3	파라핀 제거	자일렌	**3:00**
4~5	수화	**100%** 알코올	**2:00**
6	수화	**80%** 또는 **95%** 알코올	**1:00**
7	수화	탈이온수	**1:00**
8	염색	변형 크롬산 용액	**5:00~10:00**
9~10	세척	수돗물	**0:30**
11~12	헹굼	탈이온수	**0:10**
13	중화	아황산수소나트륨 용액	**1:00**
14	헹굼	흐르는 수돗물	**0:30**
15~16	헹굼	탈이온수	**0:10**
17	염색/함침	메테나민/붕사-질산은 용액	**50~55 °C**에서 **20:00~45:00**
18~23	헹굼	탈이온수	**0:10**
24	탈수	염화금 용액	**5:00**
25~27	헹굼	탈이온수	**0:10**
28	염색	티오황산나트륨 용액	**2:00**
29	헹굼	흐르는 수돗물	**2:00**
30	대조염색	라이트 그린 **SF**	**0:40**
31	헹굼	탈이온수	**0:30**
32~34	탈수	**100%** 알코올	**2:00**
35~36	투명화	자일렌	**2:00**

참고: 자일렌 대체 물질 사용 시에는 담금 시간을 약 **50%** 늘립니다.

특수 염색 키트
변형 그로코트 메테나민 은 염색

REF 38016SS12

전자레인지 염색 프로토콜

일체 용액이나 시약을 가열하기 위해 전자레인지를 사용할 때 주의를 기울여야 합니다. 실험실 안에 가스가 축적되지 않도록 전자레인지는 적절하게 환기되어야 합니다. 염색 과정 동안 전자레인지 전용 투명 코플린 자**(Coplin jar)** 및 캡을 사용해야 합니다. 엎질러지지 않도록 캡은 느슨하게 닫아야 합니다. 환기 구멍이 있는 캡 또한 사용할 수 있습니다. 제조업체의 지침에 따라 모든 전자레인지를 사용해야 합니다.

1. 자일렌으로 절편에서 파라핀을 제거한 후, 농도차가 있는 알코올**(graded alcohol)**, 그 다음 탈이온수로 또는 증류수를 사용하여 재수화합니다.
2. 슬라이드를 변형 크롬산 용액에 배치하고 **800**와트의 전자레인지에 **10**초간 돌립니다. 다음을 유의하십시오. 변형 크롬산 용액을 다룰 시 주의를 기울이십시오.
3. 코플린 자**(Coplin jar)**를 조심스럽게 빙빙 돌려서 혼합한 후 **1**분간 가만히 둡니다.
4. 슬라이드를 **6**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
5. 슬라이드를 황산수소나트륨 용액에 **1**분간 배치합니다.
6. 슬라이드를 **6**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
7. **20 ml**의 질산은 용액과 **20 ml**의 메테나민**/**붕사 용액을 산처리된 플라스틱 코플린 자**(Coplin jar)**에 혼합합니다.
8. 슬라이드를 용액에 넣고 **600**와트의 전자레인지에 **45~50**초간 돌립니다.
9. 코플린 자**(Coplin jar)**를 조심스럽게 빙빙 돌려서 혼합한 후 **2**분간 가만히 둡니다.
10. 용액을 **600**와트의 전자레인지에서 **10**초간 돌립니다.
11. 용액을 조심스럽게 휘젓고, 비금속성 겸자를 사용하여 대조 슬라이드를 꺼내어, 헹굼을 위해 따뜻하게 예열된 탈이온수에 담근 뒤, 은 퇴적물의 완전성을 현미경으로 확인합니다. 필요한 경우, 슬라이드를 메테나민**/**붕사 질산은 용액에 다시 배치하여 **10~30**초간 빙빙 돌립니다.
12. 필요한 경우, 충분한 정도의 은 퇴적물이 관찰될 때까지 **10**단계와 **11**단계를 반복합니다.
13. 슬라이드를 **6**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
14. 슬라이드를 염화금 용액에 **5**분간 배치합니다.
15. 슬라이드를 **3**번 탈이온수 또는 증류수에 헹굽니다.
16. 슬라이드를 티오황산나트륨 용액에 **2**분간 배치합니다.
17. 슬라이드를 흐르는 수돗물로 **2**분간 철저히 헹굽니다.
18. 슬라이드를 라이트 그린 **SF**에 **40**초간 배치합니다.
19. 슬라이드를 탈이온수 또는 증류수에 잠깐 헹굽니다.
20. 슬라이드를 **3**번 무수 알코올에 탈수시킵니다.
21. 슬라이드를 **2**번 자일렌으로 투명화한 후 자일렌과 섞이는 배지에 중첩합니다.

사용 준비 완료

적절한 염색 프로토콜이 선택되고 수조의 레이아웃이 생성되었으면 모든 시약을 시약 용기에 붓습니다. 시약관을 해당 스테이션에 다시 놓으십시오.

품질 관리

GMS 특수 염색 키트가 의도된 대로 기능하는 것을 확인하기 위해서는, 표본과 비슷한 방법으로 고정되고 처리된, 진균 성분이 들어있는 것이 확인된 조직을 사용한 품질 관리 슬라이드를 매 염색 검사에 포함시켜야 합니다.

예상 결과

- 진균 **–** 선명하게 그려진 검정색
- 균사체**(mycelium)** 및 균사**(hypha)**의 내부 **–** 회갈색에서 회색빛 장미색
- 뮤신 **–** 회갈색에서 짙은 회색
- 배경 **–** 초록색

분석 성능

Leica Biosystems 변형 그로코트 메테나민 은 염색 키트는 특정 분석물 또는 표지자를 검출하는 데 사용되지 않습니다. 본 제품은 포르말린으로 고정되고 파라핀으로 포매된 조직 절편에서 아스페르길루스 종**(*Aspergillus sp.*)**, 폐포자충**(*Pneumocystis carinii*)** 및 크립토코커스 네오포르만스**(*Cryptococcus neoformans*)** 등의 정의된 진균 또는 감염원을 드러내는 데 사용될 수 있습니다. 검체 수집을 위한 적절한 기준 결정, 알려진 관련 내외인성 간섭의 처리와 제어, 교차반응을 포함하여 분석 민감도, 분석 특이성, 진실성**(**편향**)**, 정밀도**(**반복성 및 재현성**)**, 정확성**(**진실성과 정밀도에서 기인**)**, 검출 및 정량의 한계, 측정 범위, 선형성, 컷오프 등과 같은 분석 매개변수는 본 시스템의 성능에 적용되지 않습니다.

특수 염색 키트
변형 그로코트 메테나민 은 염색

REF 38016SS12

임상 성능

Leica Biosystems 변형 그로코트 메테나민 은 염색 키트는 특정 질환이나 병리적인 과정 또는 상태를 발견하는 용도로는 사용되지 않습니다. 진단 민감도, 진단 특이성, 양성 예측도, 음성 예측도, 우도비 등과 같은 임상 성능 지수, 그리고 정상 및 해당 개체군의 예상 값은 임상 설정에서 **Leica Biosystems** 블루잉제의 사용에 적용되지 않습니다.

폐기

사용되었거나 유효기간이 만료된 **GMS** 특수 염색 키트는 조직, 지역, 주 및 연방 규정에 따라 폐기해야 합니다.

Spesial-fargesett
Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge

REF 38016SS12

Produktnavn

Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge (GMS) Spesial-fargesett.

Tiltenkt bruk

Påvisning/måling

Det modifiserte Grocotts metenaminsølvfarge (GMS)-settet påviser eller måler ikke en analytt eller markør.

Ved bruk med riktige histologiske protokoller kan den modifiserte Grocotts metenaminsølvfargen brukes for påvisning av definerte sopper og smittsomme agenser som *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii og Cryptococcus neoformans* i formalinfikserte, parafininnstøpte vevsnitt.

Produktfunksjon

Resultatene oppnådd gjennom bruk av GMS Spesial-fargesett skaffer ikke objektivt medisinsk bevis. Fargingen og kontrasten Leica Biosystems GMS Spesial-fargesettet gir for histologiske prøver, muliggjør visualisering av mikroskopisk anatomi. Når den tolkes av en kvalifisert person brukes denne visualiseringen sammen med annen informasjon som pasientens sykehistorie, fysiske tilstand, samt resultater fra andre medisinske prøver for å stille en medisinsk diagnose.

Spesifikk avgitt informasjon

Leica Biosystems GMS-settet er ikke tiltenkt for påvisningen, definisjonen eller differensieringen av en spesifikk lidelse, tilstand eller risikofaktor. Fargingen vist ved bruk av disse produktene, når brukt som tiltenkt, gir kvalifiserte personer informasjon som kan definere den fysiologiske eller patologiske tilstanden av vevsprøven.

Automasjon

GMS Spesial-fargesettet er ikke automatisert, men kan brukes på automatiserte fargingsplattformer. Bruk på en automatisert plattform skal valideres ved brukspunktet.

Kvalitativ/kvantitativ

Leica Biosystems GMS Spesial-fargesettet er kvalitativ farging.

Prøvetype

GMS Spesial-fargesettet kan brukes med enhver parafininnstøpt menneske- eller dyreprøve.

Prøvepopulasjon

Leica Biosystems GMS-settet er tiltenkt for bruk med enhver pasient som trenger evaluering av biopsi- eller reseksjonsvev, som for fastsettelse av en mistenkt patologi eller sykdom.

Tiltenkt bruker

GMS Spesial-fargesettet er beregnet for bruk av kvalifisert laboratoriepersonell og/eller person utpekt av laboratoriet.

***In vitro*-diagnostikk**

GMS Spesial-fargesettet er kun beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk.

Prøveprinsipp

Virkningsmekanismen til den modifiserte Grocotts metenaminsølvfargen er basert på kapasiteten til aldehydgruppene når det gjelder å redusere kationisk sølv (Ag+) til metallisk sølv. Kromsyre brukes til å generere aldehydgrupper gjennom oksidasjon av 1,2-glykolgrupper i vevskomponenter med høyt polysakkaridinnhold, f.eks. glykogen, mucin, retikulin og soppcellevegger. Når kationisk sølv tilsettes snittet i form av et metenaminsølvion-kompleks, reduserer aldehydgruppene sølvionene til metallisk sølv. Snittene tones deretter med gullkloridløsning for å danne metallisk gull, som er mer stabilt enn metallisk sølv og gir overlegen kontrast og klarhet.

På grunn av det sterke oksidasjonspotensialet til den modifiserte kromsyreløsningen blir mange av de resulterende aldehydgruppene videre oksidert til karboksylsyregrupper, som ikke kan redusere sølv. Denne kapasiteten til den modifiserte kromsyreløsningen har fordelen av å redusere bakgrunnsreaksjoner med kollagen og basalmembraner, og gir en sterk impregnering med sølv i kun de strukturene som har høye nivåer av de reaktive polysakkaridgruppene, f.eks. glykogen, mucin og soppcellevegger.

Kalibratorer og kontroller

GMS-settet krever ikke bruk av kalibratorer eller kontroller.

Reagensbegrensninger

Ingen reagensbegrensninger gjelder for dette produktet.

Spesial-fargesett
Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge

REF 38016SS12

Gjeldende produkter

Produktkode	Materialbeskrivelse
38016SS12	Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge (GMS) Spesial-fargesett
38016SS12A	Modifisert kromsyreløsning, 500 ml
38016SS12B	Natriumbisulfittløsning, 500 ml
38016SS12C	Sølvnitratløsning, 250 ml
38016SS12D	Metenamin-/boraksløsning, 250 ml (A)
38016SS12E	Gullkloridløsning, 500 ml
38016SS12F	Natriumtiosulfatløsning, 500 ml
38016SS12G	Lysegrønn SF, 500 ml

Merk: (A). Den nedkjølte metenamin-/boraksløsningen (artikkelnr. 38016SS12D, 250 ml) er ikke inkludert i GMS-settet. Artikkelen må bestilles separat og forsendes separat.

Materialer som ikke er inkludert

Protokollen for GMS Spesial-fargesettet krever bruk av graderte alkoholer, xylen eller xylensubstitutter, avionisert eller destillert vann. Ett eller flere positive kontrollobjektglass med vev som det er kjent inneholder soppelementer (ikke inkludert i dette settet), bør inkluderes i hver kjøring.

Påkrevde enheter

Leica Biosystems GMS Spesial-fargesett kan brukes på en hvilken som helst fargingsplattform eller med en manuell fargingsmetode.

Oppbevaring og stabilitet

Metenamin-/boraksløsningen skal oppbevares ved 2–8 °C (36–46 °F). Andre komponenter oppbevares ved romtemperatur 15–30 °C (59–86 °F).
FORSIKTIG: Må ikke brukes etter utløpsdatoen.

Stabilitet i bruk

I-bruk stabilitet skal fastsettes etter brukerens skjønn.

Sterilitet

Komponentene i GMS Spesial-fargesettet er ikke sterile produkter.

Advarsler/forholdsregler

Normale forholdsregler for håndtering av laboratoriereagenser bør følges. Avhend avfall ved å overholde alle lokale eller nasjonale vedtekter. Se sikkerhetsdatablad og produktetikett for eventuelt oppdatert risiko, fare eller sikkerhets-informasjon.

Status for smittefarlig materiale

GMS Spesial-fargesettet inkluderer ingen smittsomme materialer. Imidlertid skal prøver før og etter fiksering, og alle materialer som utsettes for dem, håndteres som smittefarlige og avhendes i henhold til fasilitetens retningslinjer.

Spesielle fasiliteter

GMS Spesial-fargesettet skal brukes i henhold til fasilitetens retningslinjer.

Behandling av prøver

Foreslåtte fikseringsmidler inkluderer 10% nøytral bufret formalin. Rutinemessig uttørking, klarering og parafininfiltrering og -innstøping, og rutinemessig forberedelse av mikrotomsnitt. Dårlig fiksering, behandling, gjenhydrering og snitt vil innvirke ugunstig på fargingskvaliteten. Etter behandling og parafininnstøping kuttes snittene til 4–6 mikrometer.

Forberedelse til bruk

Før farging skal det plasseres 20 ml av metenamin-/boraksløsningen og 20 ml av sølvnitratløsningen i separate syrevaskede begerglass. Varm opp løsningene til 50–55 °C, og like før sølvimpregnering kombinerer du de to løsningene i en syrevasket Coplin-krukke.

Merknader:

- **Løsningene kan varmes i et vannbad eller en laboratorieovn. Unngå overoppheting, da nedbrytningen av metenamin er raskere ved temperaturer over 50 °C.**
- **Forvarm en andre Coplin-krukke med 40 ml avionisert eller destillert vann til 50–55 °C, som skal brukes til skylling.**

Spesial-fargesett
Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge

REF 38016SS12

Bruksanvisning

Konvensjonell fargingsprotokoll

1. Avparafiniser vevsnitt med xylen og gjenhydrer gjennom grader av alkoholer til avionisert eller destillert vann.
2. Legg objektglassene i den modifiserte kromsyreløsningen i 5–10 minutter ved romtemperatur.
   Merk: Vær forsiktig ved håndtering av den modifiserte kromsyreløsningen.
3. Skyll objektglassene i to skift med springvann.
4. Skyll objektglassene i to skift med avionisert eller destillert vann.
5. Plasser objektglassene i natriumbisulfittløsning i 1 minutt.
6. Skyll objektglassene i rennende vann fra springen i 30 sekunder.
7. Skyll objektglassene i to skift med avionisert eller destillert vann.
8. Kombiner den forvarmede sølvnitratløsningen og metenamin-/boraksløsningen i en forvarmet syrevasket Coplin-krukke.
9. Plasser objektglassene i metenamin-/boraks-sølvnitratløsningen og inkuber i 20–45 minutter ved 50–55 °C. Etter 15–20 minutter skal du bruke en ikke-metallisk tang til å fjerne et kontrollobjektglass, dyppe det i det forvarmede avioniserte vannet for å skylle, og kontrollere mikroskopisk at sølvavsetningen er fullstendig.
10. Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert eller destillert vann.
11. Plasser objektglassene i gullkloridløsning i 5 minutter.
12. Skyll objektglassene i 3 skift med avionisert eller destillert vann.
13. Plasser objektglassene i natriumtiosulfatløsningen i 2 minutter.
14. Skyll objektglassene grundig i rennende vann fra springen i 2 minutter.
15. Plasser objektglassene i lysegrønn SF i 40 sekunder.
16. Skyll objektglassene i en kort tid i avionisert eller destillert vann.
17. Dehydrer objektglassene i tre skift med ren alkohol.
18. Klarer objektglassene i to skift med xylen og monter i et xylen-blandbart medium.

Tabell 1. Eksempel på konvensjonell fargingsprotokoll for GMS Spesial-fargesett.

Trinn	Handling	Kjemikalie	Tid (mm; ss)
1–3	Avparafinere	Xylen	3:00
4–5	Hydrering	100% alkohol	2:00
6	Hydrering	80% eller 95% alkohol	1:00
7	Hydrering	Avionisert vann	1:00
8	Farging	Modifisert kromsyreløsning	5:00–10:00
9–10	Vask	Springvann	0:30
11–12	Skylling	Avionisert vann	0:10
13	Nøytralisering	Natriumbisulfittløsning	1:00
14	Skylling	Rennende springvann	0:30
15–16	Skylling	Avionisert vann	0:10
17	Farging/impregnering	Metenamin-/boraks-sølvnitratløsning	20:00–45:00 ved 50–55 °C
18–23	Skylling	Avionisert vann	0:10
24	Uttørking	Gullkloridløsning	5:00
25–27	Skylling	Avionisert vann	0:10
28	Farging	Natriumtiosulfatløsning	2:00
29	Skylling	Rennende springvann	2:00
30	Kontrastfarging	Lysegrønn SF	0:40
31	Skylling	Avionisert vann	0:30
32–34	Uttørking	100% alkohol	2:00
35–36	Klarering	Xylen	2:00

Merk: Når det brukes xylensubstitutt, øk nedsenkningstider med ca. 50%.

Spesial-fargesett
Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge

REF 38016SS12

Mikrobølgefarging-protokoll

Utvis forsiktighet når mikrobølge brukes for å oppvarme en hvilken som helst løsning eller reagens. Mikrobølgen må være riktig ventilert for å hindre akkumulering av røyk i laboratoriet. Gjennomsiktige Coplin-krukker og korker for mikrobølge bør brukes i fargingsbehandlingen. Korkene bør være løst påsatt for å forhindre søl. Korker med ventilasjonshull kan også brukes. Alle mikrobølger skal brukes iflg. produsentens anvisninger.

1. **Avparafiniser vevsnitt med xylen og gjenhydrer gjennom grader av alkoholer til avionisert eller destillert vann.**
2. **Plasser objektglassene i den modifiserte kromsyreløsningen og mikrobølge ved 800 watt i 10 sekunder. Merk: Vær forsiktig ved håndtering av den modifiserte kromsyreløsningen.**
3. **Bland forsiktig ved å virvle Coplin-krukken og la stå i 1 minutt.**
4. **Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert eller destillert vann.**
5. **Plasser objektglassene i natriumbisulfittløsning i 1 minutt.**
6. **Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert eller destillert vann.**
7. **Kombiner 20 ml av sølvnitratløsningen og 20 ml av metenamin-/boraksløsningen i en syrevasket Coplin-krukke av plast.**
8. **Plasser objektglassene i løsningen og mikrobølge ved 600 watt i 45–50 sekunder.**
9. **Bland forsiktig ved å virvle Coplin-krukken og la stå i 2 minutter.**
10. **Mikrobølge løsningen i 10 sekunder ved 600 watt.**
11. **Agiter løsningen forsiktig og bruk en ikke-metallisk tang til å fjerne et kontrollobjektglass, dyppe det i det forvarmede vannet for å skylle, og kontrollere mikroskopisk at sølvavsetningen er fullstendig. Plasser om nødvendig objektglassene tilbake i den varme metenamin-/boraks-sølvnitratløsningen og virvle i 10–30 sekunder.**
12. **Gjenta om nødvendig trinn 10 og 11 til du ser et tilfredsstillende nivå av sølvavsetning.**
13. **Skyll objektglassene i 6 skift med avionisert eller destillert vann.**
14. **Plasser objektglassene i gullkloridløsning i 5 minutter.**
15. **Skyll objektglassene i 3 skift med avionisert eller destillert vann.**
16. **Plasser objektglassene i natriumtiosulfatløsningen i 2 minutter.**
17. **Skyll objektglassene grundig i rennende vann fra springen i 2 minutter.**
18. **Plasser objektglassene i lysegrønn SF i 40 sekunder.**
19. **Skyll objektglassene i en kort tid i avionisert eller destillert vann.**
20. **Dehydrer objektglassene i 3 skift med ren alkohol.**
21. **Klarer objektglassene i 2 skift med xylen og monter i et xylen-blandbart medium.**

Klargjøring for bruk

Etter at egnet fargingsprotokoll er valgt, og bad-layout er opprettet, heller du all reagensen i reagenskaret. Plasser reagenskaret tilbake i den relevante stasjonen.

Kvalitetskontroll

Ett eller flere kvalitetskontrollobjektglass med vev som det er kjent inneholder soppelementer, fiksert og behandlet på tilsvarende måte som testprøvene, bør inkluderes i hver fargingsanalyse for å sikre at GMS Spesial-fargesettet fungerer som tiltenkt.

Forventede resultater

- **Sopper – skarpt avgrenset svart**
- **Indre deler av myceler og hyfer – brun til rosa**
- **Mucin – brun til mørkegrå**
- **Bakgrunn – grønn**

Analytisk ytelse

Leica Biosystems modifiserte Grocotts metenaminsølvfargesett skal ikke brukes til å påvise en spesifikk analytt eller markør. Disse produktene brukes for påvisning av definerte sopper og smittsomme agenser som *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii og Cryptococcus neoformans* i formalinfikserte, parafininnstøpte vevsnitt. Analytiske parametere som analytisk sensitivitet, analytisk spesifisitet, korrekthet (skjevhet), presisjon (repeterbarhet og reproduserbarhet), nøyaktighet (som følge av korrekthet og presisjon), deteksjons- og kvantifiseringsgrenser, måleområde, linearitet, avskjæring, inkludert bestemmelse av egnede kriterier for prøvetaking og håndtering av prøver og kontroll av kjent relevant endogen- og eksogeninterferens, kryssreaksjoner gjelder ikke for ytelsen til dette systemet.

Klinisk ytelse

Leica Biosystems modifiserte Grocotts metenaminsølvfargesett er ikke tiltenkt for bruk som et middel for å påvise en spesifikk sykdom eller patologisk prosess eller tilstand. Kliniske prestasjonsindekser slik som diagnostisk følsomhet, diagnostisk spesifisitet, positiv prediktiv verdi, negativ prediktiv verdi, sannsynlighetsforhold så vel som forventede verdier i normale og berørte populasjoner, gjelder ikke for bruken av Leica Biosystems blåfargingsmidler i en klinisk setting.

Avhending

Spesial-fargesett
Modifisert Grocotts metenaminsølvfarge

REF 38016SS12

Brukte eller utløpte komponenter av GMS Spesial-fargesettet skal kastes i samsvar med organisasjonens og lokale og nasjonale orskrifter.

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta

REF 38016SS12

Nazwa produktu

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta (GMS).

Przeznaczenie

Wykrywanie/Pomiary

Zestaw zmodyfikowanej metody Grocotta (GMS) nie wykrywa, ani nie mierzy żadnego analitu, ani wskaźnika.

Zestaw zmodyfikowanej metody Grocotta, przy stosowaniu razem z odpowiednimi protokołami histopatologicznymi, może być używany do wykazywania obecności określonych grzybów i czynników zakaźnych, takich jak *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii i Cryptococcus neoformans* w skrawkach tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie.

Działanie produktu

Wyniki uzyskane przy używaniu specjalnego zestawu barwiącego GMS firmy Leica Biosystems nie stanowią obiektywnych dowodów medycznych. Kolor i kontrast zapewniane przez specjalny zestaw barwiący GMS firmy Leica Biosystems w preparatach histologicznych i cytologicznych umożliwiają wizualizację mikroskopowych elementów anatomicznych. Taka wizualizacja, o ile zostanie zinterpretowana przez przeszkolonego specjalistę, jest wykorzystywana wraz z innymi informacjami, takimi jak wywiad medyczny, stan fizyczny pacjenta oraz wyniki innych badań medycznych, do postawienia rozpoznania lekarskiego.

Przekazane szczegółowe informacje

Zestaw barwiący GMS firmy Leica Biosystems nie jest przeznaczony do wykrywania, definiowania lub różnicowania określonego zaburzenia, stanu lub czynnika ryzyka. Barwienie uzyskane za pomocą tego produktu, o ile używane zgodnie z przeznaczeniem, dostarcza przeszkolonym specjalistom informacji, które pomagają określić stan fizjologiczny lub patologiczny preparatu tkankowego.

Automatyzacja

Specjalny zestaw barwiący GMS firmy Leica Biosystems nie jest automatyczny, lecz można go używać w automatycznych platformach barwiących. Użycie w automatycznej platformie powinno zostać zweryfikowane w miejscu stosowania.

Badanie jakościowe/ilościowe

Specjalny zestaw barwiący GMS firmy Leica Biosystems jest używany z barwieniami jakościowymi.

Rodzaj preparatu

Specjalnego zestaw barwiącego GMS można używać ze wszystkimi próbkami ludzkimi i zwierzęcymi osadzonymi w parafinie.

Badanie populacji

Zestaw GMS firmy Leica Biosystems jest przeznaczony do użycia u pacjentów wymagających oceny bioptatu lub wycinka tkanki przeznaczonego do oceny podejrzenia stanu patologicznego lub choroby.

Użytkownik docelowy

Specjalny zestaw barwiący GMS jest przeznaczony do użytku przez wykwalifikowany personel laboratoryjny i/lub osobę wyznaczoną przez laboratorium.

Diagnostyka *in vitro*

Zestaw barwiący GMS jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Zasada badania

Mechanizm działania zmodyfikowanej metody Grocotta (GMS, Grocott's Methenamine Silver Stain) opiera się na zdolności grup aldehydowych do redukcji kationów srebra (Ag+) do srebra metalicznego. Kwas chromowy jest używany do tworzenia grup aldehydowych poprzez utlenianie grup glikolowych 1-2 w obrębie elementów tkankowych bogatych w polisacharydy, jak przykładowo glikogen, mucyna, retikulina i ściana komórkowa grzybów. Po dodaniu do skrawka kationów srebra w postaci kompleksu jonów srebra-metenaminy, grupy aldehydowe powodują redukcję jonów srebra do srebra metalicznego. Skrawki następnie są poddawane działaniu roztworu chlorku złota w celu uzyskania złota metalicznego, które jest stabilniejsze od srebra metalicznego i zapewnia lepszy kontrast i przejrzystość.

Z powodu silnego potencjału utleniającego zmodyfikowanego roztworu kwasu chromowego, wiele z utworzonych grup aldehydowych podlega dalszemu utlenianiu do grup kwasu karboksylowego, które nie mogą prowadzić redukcji srebra.

Ta zdolność zmodyfikowanego roztworu kwasu chromowego umożliwia zredukowanie reakcji z kolagenem i błonami podstawnymi oraz zapewnia silne wysycenie srebrem wyłącznie w obrębie struktur, które zawierają wysoki poziom reaktywnych grup polisacharydowych, jak glikogen, mucyna i ściany komórkowe grzybów.

Roztwory kalibracyjne i kontrole

Zestaw GMS nie wymaga użycia żadnych kalibratorów ani kontroli.

Ograniczenia dotyczące odczynników

Tego produktu nie dotyczą żadne ograniczenia związane z odczynnikami.

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta

REF 38016SS12

Produkty

Kod produktu	Opis produktu
38016SS12	Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta (GMS)
38016SS12A	Zmodyfikowany roztwór kwasu chromowego, 500 ml
38016SS12B	Roztwór dwusiarczynu sodu, 500 ml
38016SS12C	Roztwór azotanu srebra, 250 ml
38016SS12D	Roztwór metenamina/boraks, 250 ml (A)
38016SS12E	Roztwór chlorku złota, 500 ml
38016SS12F	Roztwór tiosiarczanu sodu, 500 ml
38016SS12G	Barwnik Light Green SF, 500 ml

Uwaga: (A). Do zestawu GMS nie dołączono chłodzonego roztworu metenamina/boraks (nr kat. 38016SS12D, 250 ml). Konieczne jest oddzielne zamówienie tej pozycji, która zostanie wysłana w oddzielnej przesyłce.

Materiały niedołączone

Protokół z wykorzystaniem specjalnego zestawu barwiącego GMS wymaga stosowania alkoholi o rosnących stężeniach, ksylenu lub zamienników ksylenu, wody dejonizowanej lub destylowanej. W każdej serii należy uwzględnić dodatnie preparaty kontrolne zawierających tkanki z elementami grzybiczymi (nie dołączone do niniejszego zestawu).

Wymagane urządzenia

Specjalny zestaw barwiący GMS firmy Leica Biosystems można stosować z dowolną automatyczną platformą barwiącą lub metodą barwienia ręcznego.

Przechowywanie i trwałość

Roztwór metemina/boraks należy przechowywać w temperaturze 2–8 °C, (36–46 °F). Pozostałe elementy należy przechowywać w temperaturze pokojowej 15–30 °C (59–86 °F)
PRZESTROGA: Nie należy stosować po upływie terminu przydatności.

Stabilność podczas używania

Określanie stabilności podczas stosowania zależy od uznania użytkownika.

Jałowość

Elementy specjalnego systemu barwiącego GMS nie są jałowymi produktami.

Ostrzeżenia/Środki ostrożności

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności związanych z obsługą odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować odpady zgodnie ze wszystkimi lokalnymi i krajowymi przepisami. Zapoznać się z kartą charakterystyki substancji niebezpiecznej (MSDS) oraz etykietą produktu, aby uzyskać informacje na temat zaktualizowanych zagrożeń, niebezpieczeństw czy Informacji.

Status materiałów zakaźnych

Specjalny zestaw barwiący GMS nie zawiera żadnych materiałów zakaźnych. Jednak, z preparatami przed utrwaleniem i po utrwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy się ich pozbywać, zachowując odpowiednie środki ostrożności zgodnie z wytycznymi obiektu.

Wyposażenie specjalne

Specjalny zestaw barwiący GMS należy stosować zgodnie z wytycznymi danej placówki.

Praca z próbkami

Sugerowane utrwalacze obejmują roztwór 10% buforowanej formaliny o odczynie obojętnym. Rutynowe odwadnianie, prześwietlanie, nasycanie i zatapianie w parafinie i rutynowe przygotowanie skrawków mikrotomowych. Niewystarczające utrwalenie, przetworzenie, nawodnienie i przygotowanie skrawka negatywnie wpływają na jakość barwienia. Po obróbce i zatopieniu w parafinie pociąć na odcinki po 4–6 mikronów.

Przygotowanie do użycia

Przed wybarwieniem należy umieścić 20 ml roztworu metemina/boraks i 20 ml roztworu azotanu sodu w oddzielnych zlewkach wyczyszczonych kwasami. Podgrzać roztwory do temperatury 50–55 °C i połączyć tuż przed impregnacją srebrem w wymytym kwasem pojemniku Coplin.

Uwagi:

- **Roztwory można podgrzać przy użyciu łaźni wodnej lub pieca laboratoryjnego. Unikać przegrzania, gdyż rozpad metenaminy przyspiesza w temperaturach przekraczających 50 °C.**

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta

REF 38016SS12

- **Wstępnie podgrzać do temperatury 50–55 °C drugi pojemnik Coplin zawierający 40 ml wody destylowanej lub dejonizowanej w celu wykorzystania jej do płukania.**

Zalecenia dotyczące stosowania

Konwencjonalny protokół barwienia

1. **Odparafinuj skrawki tkankowe ksylenem i przeprowadzić rehydratację przy użyciu alkoholi o rosnących stężeniach do wody dejonizowanej lub destylowanej.**
2. **Umieścić preparaty w zmodyfikowanym roztworze kwasu chromowego na czas 5–10 minut w temperaturze pokojowej. Należy pamiętać: Zachować szczególną ostrożność przy obsługiwaniu zmodyfikowanego roztworu kwasu chromowego.**
3. **Przepłucz preparaty dwiema zmianami wody wodociągowej.**
4. **Przepłucz preparaty dwiema zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.**
5. **Umieść preparaty w roztworze dwusiarczynu sodu na czas 1 minuty.**
6. **Przepłucz preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez 30 sekund.**
7. **Przepłucz preparaty dwiema zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.**
8. **Połącz z wstępnie podgrzanym roztworem azotanu sodu i metenamina/boraks w wyczyszczonym kwasem wstępnie podgrzanym pojemniku Coplin.**
9. **Umieść preparaty w roztworze metenamina/boraks/azotan srebra i inkubuj przez 20–45 minut w temperaturze 50–55 °C. Po 15–20 minutach użyj niemetalicznych kleszczyków do wyjęcia preparatu kontrolnego, zanurz go we wstępnie podgrzanej wodzie dejonizowanej celem opłukania i sprawdź pod mikroskopem, czy doszło do całkowitego osadzenia się srebra.**
10. **Przepłucz preparaty 6 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.**
11. **Umieść preparaty w roztworze chlorku złota na czas 5 minut.**
12. **Przepłucz preparaty 3 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.**
13. **Umieść preparaty w roztworze tiosiarczanu sodu na czas 2 minut.**
14. **Dokładnie przepłucz preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez 2 minuty.**
15. **Umieść preparaty w roztworze Light Green SF na czas 40 sekund.**
16. **Krótko przepłucz preparaty wodą dejonizowaną lub destylowaną.**
17. **Odwodnij preparaty trzema zmianami alkoholu absolutnego.**
18. **Oczyść preparaty dwiema zmianami ksylenu i zatopić w środku mieszalnym z ksylenem.**

Tabela 1. Przykład konwencjonalnego protokołu z wykorzystaniem specjalnego zestawu barwiącego GMS.

Etapy	Czynność	Substancja chemiczna	Czas (mm:ss)
1–3	Deparafinizacja	Ksylen	3:00
4-5	Nawodnienie	Alkohol 100%	2:00
6	Nawodnienie	Alkohol 80% lub 95%	1:00
7	Nawodnienie	Woda dejonizowana	1:00
8	Barwienie	Zmodyfikowany roztwór kwasu chromowego	5:00-10:00
9–10	Przemycie	Woda wodociągowa	0:30
11–12	Płukanie	Woda dejonizowana	0:10
13	Neutralizacja	Roztwór dwusiarczynu sodu	1:00
14	Płukanie	Bieżąca woda wodociągowa	0:30
15–16	Płukanie	Woda dejonizowana	0:10
17	Wybarwienie/impregnacja	Roztwór metenamina/boraks/azotan srebra	20:00–45:00 w temperaturze 50–55 °C
18–23	Płukanie	Woda dejonizowana	0:10
24	Odwodnienie	Roztwór chlorku złota	5:00
25–27	Płukanie	Woda dejonizowana	0:10
28	Barwienie	Roztwór tiosiarczynu sodu	2:00
29	Płukanie	Bieżąca woda wodociągowa	2:00
30	Barwienie kontrastowe	Roztwór Light Green SF	0:40
31	Płukanie	Woda dejonizowana	0:30
32–34	Odwodnienie	Alkohol 100%	2:00

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta

REF 38016SS12

35–36	Oczyszczanie	Ksylen	02:00

Uwaga: Przy stosowaniu zamiennika ksylenu należy zwiększyć czas immersji o około 50%.

Protokół barwienia mikrofalowego

Zachować szczególną ostrożność przy stosowaniu fal mikrofalowych do podgrzewania roztwór lub odczynników. Piec mikrofalowy trzeba odpowiednio wentylować, aby zapobiegać gromadzeniu się oparów w obrębie laboratorium. W trakcie procesu wybarwiania należy stosować pojemniki i zakrętki Coplin przepuszczające promieniowanie mikrofalowe. Zakrętki należy luźno nałożyć, aby zapobiec wyciekom. Można również używać zakrętek z otworami wentylacyjnymi. Wszystkie piece mikrofalowe należy stosować zgodnie z instrukcjami producenta wskaźnika.

1. Odparafinuj skrawki tkankowe ksylenem i przeprowadzić rehydratację przy użyciu alkoholi o rosnących stężeniach do wody dejonizowanej lub destylowanej.
2. Umieść skrawki w zmodyfikowanym roztworze kwasu chromowego i włączyć promieniowanie mikrofalowe o mocy 800 W na 10 sekund.
   Należy pamiętać: Zachować szczególną ostrożność przy obsługiwaniu zmodyfikowanego roztworu kwasu chromowego.
3. Delikatnie wymieszać, wirując pojemnikiem Coplin, i odstawić na 1 minutę.
4. Przepłucz preparaty 6 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.
5. Umieść preparaty w roztworze dwusiarczynu sodu na czas 1 minuty.
6. Przepłucz preparaty 6 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.
7. Połączy z 20 ml roztworu azotanu sodu i 20 ml roztworu metenamina/boraks w wyczyszczonym kwasem plastikowym pojemniku Coplin.
8. Umieść preparaty w roztworze i włącz promieniowanie mikrofalowe o mocy 600 W na 45– 50 sekund.
9. Delikatnie wymieszaj, wirując pojemnikiem Coplin, i odstawi na 2 minuty.
10. Włącz promieniowanie mikrofalowe i napromieniaj roztwór przez 10 sekund przy 600 W.
11. Delikatnie poruszaj roztworem i użyj niemetalicznych kleszczyków do wyjęcia preparatu kontrolnego, zanurz go we wstępnie podgrzanej wodzie dejonizowanej celem opłukania i sprawdź pod mikroskopem czy doszło do całkowitego osadzenia się srebra. W razie potrzeby zastąp preparaty w ciepłym roztworze metenamina/boraks/azotan srebra i wirować przez 10–30 sekund.
12. W razie potrzeby powtórz kroki opisane w punktach 10 i 11, aż do uzyskania zadowalającego poziomu osadzenia srebra.
13. Przepłucz preparaty 6 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.
14. Umieść preparaty w roztworze chlorku złota na czas 5 minut.
15. Przepłucz preparaty 3 zmianami wody destylowanej lub dejonizowanej.
16. Umieść preparaty w roztworze tiosiarczanu sodu na czas 2 minut.
17. Dokładnie przepłucz preparaty pod bieżącą wodą wodociągową przez 2 minuty.
18. Umieść preparaty w roztworze Light Green SF na czas 40 sekund.
19. Krótko przepłucz preparaty wodą dejonizowaną lub destylowaną.
20. Odwodnij preparaty 3 zmianami alkoholu absolutnego.
21. Oczyść preparaty 2 zmianami ksylenu i zatopić w środku mieszalnym z ksylenem.

Gotowość do użycia

Po wybraniu odpowiedniego protokołu barwienia oraz przygotowaniu układu kąpieli, nalać cały odczynnik do naczynia reakcyjnego. Umieścić naczynie reakcyjne ponownie w odpowiedniej stacji.

Kontrola jakości

Aby mieć pewność, że specjalny zestaw barwiący GMS działa zgodnie z przeznaczeniem, przy każdym barwieniu należy stosować zawierający elementy grzybicze preparat kontroli jakości, utrwalony i przetworzony w podobny sposób, jak preparaty testowe.

Oczekiwane wyniki

- Grzyby — ostro odgraniczona czerń
- Wewnętrzne części grzybni i strzępek — kolor od brązowoszarego po przybrudzony róż
- Mucyna — kolor od brązowoszarego po ciemnoszary
- Tło — zielone

Wydajność analityczna

Zestawy barwiące zmodyfikowanej metody Grocotta firmy Leica Biosystems nie służą do wykrywania konkretnych analitów czy wskaźników. Te produkty są używane do wykazywania obecności określonych grzybów i czynników zakaźnych, takich jak *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii i Cryptococcus neoformans* w skrawkach tkankowych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie. Parametry analityczne, takie jak czułość analityczna, swoistość analityczna, prawdziwość (podatność na zakłócenia), precyzja (powtarzalność i odtwarzalność), dokładność (wynikająca z prawdziwości i precyzji), granice wykrywalności i wyznaczalności, zakres pomiarowy, liniowość, punkty odcięcia, w tym określenie odpowiednich kryteriów

do pobierania próbek, a także praca z i kontrola nad znanymi substancjami zakłócającymi odpowiednio endogennymi i egzogennymi, reakcje krzyżowe nie mają zastosowania do działania tego systemu.

Specjalny zestaw barwiący zmodyfikowanej metody Grocotta

REF 38016SS12

Wydajność kliniczna

Zestawy barwiące zmodyfikowanej metody Grocotta firmy Leica Biosystems nie są przeznaczone do używania jako środek wykrywania określonej choroby lub procesu patologicznego lub stanu. Wskaźniki wydajności klinicznej, takie jak czułość diagnostyczna, swoistość diagnostyczna, dodatnia wartość predykcyjna, ujemna wartość predykcyjna, iloraz wiarygodności oraz przewidywane wartości w populacji normalnej i dotkniętej schorzeniem nie mają zastosowania do działania środków niebieszczących firmy Leica Biosystems w warunkach klinicznych.

Usuwanie odpadów

Wykorzystane lub przeterminowane elementy specjalnego zestawu barwiącego GMS należy utylizować zgodnie z obowiązującymi w organizacji, lokalnymi, wojewódzkimi i krajowymi przepisami.

Kit do corante especial
Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Nome do produto

Kit de Coloração de Metenamina de Prata (GMS) Especial de Grocott modificada.

Uso pretendido

Detecção/medição

O kit de Coloração de Metenamina de Prata (GMS) Especial de Grocott modificada não detecta nem mede analitos ou marcadores.

Quando usado seguindo os protocolos histológicos apropriados, a Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada pode ser usada para demonstrar a presença de agentes fúngicos e infecciosos definidos como *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii* e *Cryptococcus neoformans* em cortes de tecido fixados em formalina e incluídos em parafina.

Função do produto

Os resultados obtidos com o uso do kit de corante GMS especial não fornecem evidências médicas objetivas. A coloração e o contraste proporcionados às amostras histológicas pelo kit de corante GMS especial da Leica Biosystems possibilitam a visualização da anatomia microscópica. Essa visualização, quando interpretada por um profissional treinado, é utilizada juntamente com outras informações, como histórico médico, condição física e resultados de outros exames médicos do paciente, para estabelecer um diagnóstico clínico.

Informações específicas fornecidas

O kit GMS da Leica Biosystems não se destina à detecção, definição ou diferenciação de um distúrbio, condição ou fator de risco específico. A coloração demonstrada com o uso desses produtos, quando utilizados como pretendido, fornece aos profissionais qualificados informações que podem definir a condição fisiológica ou patológica da amostra de tecido.

Automação

O kit de corante GMS especial não é automatizado, mas pode ser utilizado em plataformas de coloração automatizadas. A utilização em uma plataforma automatizada deve ser validada no local de uso.

Qualitativo/Quantitativo

O kit de corante GMS especial da Leica Biosystems é qualitativo.

Tipo de amostra

O kit de corante GMS especial pode ser usado com qualquer amostra humana ou animal incluída em parafina.

População de teste

O kit GMS da Leica Biosystems destina-se ao uso para qualquer paciente que necessite de avaliação de biópsia ou tecido de resseção quando existe suspeita de alguma patologia ou doença.

Usuário pretendido

O kit de corante GMS especial destina-se ao uso por pessoal qualificado do laboratório e/ou designado pelo laboratório.

Diagnóstico *in vitro*

O kit GMS é indicado apenas para diagnóstico *in vitro*.

Princípio do teste

O mecanismo de ação da Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada se baseia na capacidade de grupos aldeído reduzirem cátions de prata (Ag+) em prata metálica. O ácido crômico é usado para gerar grupos aldeído através da oxidação de 1 a 2 grupos glicol dentro de componentes de tecido ricos em polissacarídeos; por exemplo, glicogênio, mucina, reticulina e paredes celulares de fungos. Quando cátions de prata são adicionados ao corte de tecido na forma do complexo metenamina-íon de prata, os grupos aldeídos reduzem os íons de prata em prata metálica. Os cortes são então tonificados com solução de cloreto de ouro para produzir ouro metálico que é mais estável do que prata metálica e produz contraste e clareza superiores. Devido ao forte potencial de oxidação da solução de ácido crômico modificada, muitos dos grupos aldeído resultantes são posteriormente oxidados em grupos de ácido carboxílico que são incapazes de reduzir a prata. Esta capacidade da solução de ácido crómico modificada tem a vantagem de reduzir as reações de fundo do colagéno e das membranas basais e de produzir uma forte impregnação com prata apenas nas estruturas que possuem níveis elevados dos grupos polissacarídeos resultantes; por exemplo, glicogênio, mucina e paredes celulares de fungos.

Calibradores e controles

O kit GMS não requer o uso de calibradores ou controles.

Limitações do reagente

Nenhuma limitação de reagente se aplica a este produto.

Kit do corante especial
Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Produtos aplicáveis

Código do produto	Descrição do material
38016SS12	Kit da Coloração de Metenamina de Prata (GMS) Especial de Grocott modificada
38016SS12A	Solução de ácido crômico modificada, 500 ml
38016SS12B	Solução de bissulfito de sódio, 500 ml
38016SS12C	Solução de nitrato de prata, 250 ml
38016SS12D	Solução de metenamina/bórax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solução de cloreto de ouro, 500 ml
38016SS12F	Solução de tiossulfato de sódio, 500 ml
38016SS12G	Light Green SF, 500 ml

Observação: (A). A solução refrigerada de metenamina/bórax (Item No. 38016SS12D, 250 ml) não está incluída no kit GMS. O item deve ser solicitado separadamente e será despachado separadamente.

Materiais não inclusos

O protocolo do kit de corante GMS especial exige o uso de álcoois graduados, xilol ou substitutos do xilol e água deionizada ou destilada. Lâmina(s) de controle positivo com tecido contendo elementos fúngicos (não incluída[s] neste kit) devem ser incluídas em cada ensaio.

Dispositivos necessários

O kit de corante GMS especial da Leica Biosystems pode ser utilizado em qualquer plataforma de coloração automatizada ou com um método de coloração manual.

Armazenamento e estabilidade

A solução de metenamina/bórax deve ser armazenada a 2 °C - 8 °C (36 °F - 46 °F). Armazene outros componentes à temperatura ambiente a 15 °C - 30 °C (59 °F - 86 °F).
ATENÇÃO: Não utilize após a data de validade.

Estabilidade em uso

A estabilidade em uso deve ser determinada com base nos critérios do usuário.

Esterilidade

Os componentes do kit de corante GMS especial não são produtos estéreis.

Avisos/precauções

Siga as precauções normais empregadas no manuseio de reagentes de laboratório. Descarte os resíduos observando todos os regulamentos municipais, estaduais ou nacionais. Consulte a Folha de Dados de Segurança do Material e o rótulo do produto para atualizar-se sobre qualquer risco, perigo ou questão de segurança.

Status de material infeccioso

O kit de corante GMS especial não contém nenhum material infeccioso. No entanto, as amostras, antes e depois da fixação, e todos os materiais expostos a elas devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir infecções e descartados com as devidas precauções, de acordo com as diretrizes da instituição.

Instalações especiais

O kit de corante GMS especial deve ser utilizado segundo as diretrizes da instituição.

Manipulação da amostra

Os fixadores sugeridos incluem a formalina tamponada neutra a 10%. Desidratação, diafanização, infiltração e inclusão em parafina rotineiras e preparação rotineira de cortes de micrótomo. Fixação, processamento, reidratação e seccionamento malfeitos afetam de forma adversa a qualidade da coloração. Após o processamento e a inclusão em parafina, faça cortes de 4 a 6 micra.

Preparação para uso

Antes da coloração, coloque 20 ml da solução de metenamina/bórax e 20 ml da solução de nitrato de prata em béqueres separados limpos com ácido. Aqueça as soluções a 50 °C - 55 °C e, imediatamente antes da impregnação com prata, combine as duas soluções em um frasco de Coplin lavado com ácido.

Observações:

- **As soluções podem ser aquecidas em banho-maria ou forno de laboratório. Evite o superaquecimento, pois a decomposição da metenamina é acelerada em temperaturas acima de 50 °C.**
- **Pré-aqueça um segundo frasco de Coplin com 40 ml de água deionizada ou destilada a 50 °C - 55 °C para ser usada como enxágue.**

Kit do corante especial
Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Instruções de uso

Protocolo de coloração convencional

1. **Desparafine os cortes de tecido usando xilol e reidrate em gradientes de álcool até água deionizada ou destilada.**
2. **Coloque as lâminas em solução de ácido crômico modificado por 5 a 10 minutos à temperatura ambiente. Observação: Exerça cautela ao manusear a solução de ácido crômico modificada.**
3. **Enxágue as lâminas em dois banhos de água de torneira.**
4. **Enxágue as lâminas em dois banhos de água deionizada ou destilada.**
5. **Coloque as lâminas em uma solução de bissulfito de sódio por 1 minuto.**
6. **Enxágue as lâminas em água de torneira por 30 segundos.**
7. **Enxágue as lâminas em dois banhos de água deionizada ou destilada.**
8. **Combine a solução pré-aquecida de nitrato de prata e a solução de metenamina/bórax em um frasco de Coplin pré-aquecido e limpo com ácido.**
9. **Coloque as lâminas na solução de metenamina/nitrato de prata-bórax e incube por 20 - 45 minutos a 50 °C - 55 °C. Após 15 - 20 minutos, usando uma pinça não metálica, remova uma lâmina controle, mergulhe na água deionizada pré-aquecida para enxaguar e verifique microscopicamente se a deposição de prata está completa.**
10. **Enxágue as lâminas em 6 banhos de água deionizada ou destilada.**
11. **Coloque as lâminas na solução de cloreto de ouro por 5 minutos.**
12. **Enxágue as lâminas em 3 banhos de água deionizada ou destilada.**
13. **Coloque as lâminas na solução de tiossulfato de sódio por 2 minutos.**
14. **Enxágue bem as lâminas em água de torneira por 2 minutos.**
15. **Coloque as lâminas em Light Green SF por 40 segundos.**
16. **Enxágue as lâminas rapidamente em água deionizada ou destilada.**
17. **Desidrate as lâminas em três banhos de álcool absoluto.**
18. **Clareie em dois banhos de xilol e monte em um meio miscível em xilol.**

Tabela 1. Exemplo de protocolo de coloração convencional com o kit de corante GMS especial.

Passos	Ação	Produto químico	Tempo (mm:ss)
1 a 3	Desparafinar	Xilol	03:00
4 a 5	Hidratação	Álcool 100%	02:00
6	Hidratação	Álcool 80% ou 95%	01:00
7	Hidratação	Água deionizada	01:00
8	Coloração	Solução de ácido crômico modificada	05:00 - 10:00
9 a 10	Lavar	Água de torneira	00:30
11 a 12	Enxaguar	Água deionizada	0:10
13	Neutralizar	Solução de bissulfito de sódio	01:00
14	Enxaguar	Água de torneira	00:30
15 a 16	Enxaguar	Água deionizada	0:10
17	Corado/Impregnado	Solução de metenamina/bórax-nitrato de prata	20:00 - 45:00 a 50 °C - 55 °C
18 a 23	Enxaguar	Água deionizada	0:10
24	Desidratação	Solução de cloreto de ouro	05:00
25 a 27	Enxaguar	Água deionizada	0:10
28	Coloração	Solução de tiossulfato de sódio	02:00
29	Enxaguar	Água de torneira	02:00
30	Contracoloração	Light Green SF	0:40
31	Enxaguar	Água deionizada	00:30
32 a 34	Desidratação	Álcool 100%	02:00
35 a 36	Diafanização ou Clarificação	Xilol	02:00

Observação: Ao usar um substituto do xilol, aumente os tempos de imersão em aproximadamente 50%.

Protocolo de coloração em micro-ondas

Exerça cautela ao usar o micro-ondas para aquecer qualquer solução ou reagente. O micro-ondas deve ser adequadamente ventilado para prevenir o acúmulo de vapores no laboratório. Frascos e tampas de Coplin transparentes para micro-ondas devem ser usados durante o processo de coloração. As tampas devem ser fechadas frouxamente para evitar derramamentos. Tampas com orifícios para ventilação também podem ser usadas. Todos os micro-ondas devem ser usados de acordo com as instruções do fabricante.

1. **Desparafine os cortes de tecido usando xilol e reidrate em gradientes de álcool até água deionizada ou destilada.**
2. **Coloque as lâminas em solução de ácido crômico modificado e leve ao micro-ondas a 800 watts por 10 segundos. Observação: Exerça cautela ao manusear a solução de ácido crômico modificada.**
3. **Misture o frasco de Coplin suavemente com movimentos de rotação e permita que descanse por 1 minuto.**
4. **Enxágue as lâminas em 6 banhos de água deionizada ou destilada.**
5. **Coloque as lâminas em uma solução de bissulfito de sódio por 1 minuto.**
6. **Enxágue as lâminas em 6 banhos de água deionizada ou destilada.**
7. **Combine 20 ml de solução de nitrato de prata e 20 ml de solução de metenamina/bórax em um frasco plástico de Coplin limpo com ácido.**
8. **Coloque as lâminas na solução e leve ao micro-ondas a 600 watts por 45 a 50 segundos.**
9. **Misture o frasco de Coplin suavemente com movimentos de rotação e permita que descanse por 2 minutos.**
10. **Leve a solução ao micro-ondas por 10 segundo a 600 watts.**
11. **Agite a solução suavemente e, usando uma pinça não metálica, remova uma lâmina controle, mergulhe em água deionizada pré-aquecida para enxaguar e verifique microscopicamente se a impregnação de prata está completa. Se necessário, coloque as lâminas novamente na solução aquecida de metenamina/bórax-nitrato de prata e agite por 10 a 30 segundos.**
12. **Se necessário, repita as etapas 10 e 11 até observar um nível de deposição de prata satisfatório.**
13. **Enxágue as lâminas em 6 banhos de água deionizada ou destilada.**
14. **Coloque as lâminas na solução de cloreto de ouro por 5 minutos.**
15. **Enxágue as lâminas em 3 banhos de água deionizada ou destilada.**
16. **Coloque as lâminas na solução de tiossulfato de sódio por 2 minutos.**
17. **Enxágue bem as lâminas em água de torneira por 2 minutos.**
18. **Coloque as lâminas em Light Green SF por 40 segundos.**
19. **Enxágue as lâminas rapidamente em água deionizada ou destilada.**
20. **Desidrate as lâminas em 3 banhos de álcool absoluto.**
21. **Clareie as lâminas em 2 banhos de xilol e monte em um meio miscível em xilol.**

Prontidão de uso

Depois de escolhido o protocolo de coloração apropriado e criada a configuração de imersão, despeje todo o reagente no reservatório de reagentes. Coloque o reservatório de reagentes de volta na estação respectiva.

Controle de qualidade

Uma ou mais lâminas de controle de qualidade com tecido contendo elementos fúngicos, fixado e processado de maneira semelhante à usada para as amostras de teste, devem ser incluídas em cada ensaio de coloração para assegurar que o kit de corante GMS especial está apresentando o desempenho pretendido.

Resultados esperados

- **Fungos - delineamento nítido em preto**
- **Partes internas de micélios e hifas - cinza-acastanhado a rosa velho**
- **Mucina - cinza-acastanhado a cinza escuro**
- **Fundo - verde**

Desempenho analítico

Os kits da Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada da Leica Biosystems não são usados para detectar um analito ou marcador específico. Esses produtos são usados para demonstrar fungos e agentes infecciosos definidos, como *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii e Cryptococcus neoformans* em cortes de tecido fixados em formalina e incluídos em parafina. Parâmetros analíticos, tais como sensibilidade analítica, especificidade analítica, confiança (viés), precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão (resultante da confiança e precisão), limites de detecção e quantificação, faixa de medição, linearidade, corte, incluindo a determinação dos critérios apropriados para a coleta e manipulação de amostras e controle de interferências endógenas e exógenas relevantes conhecidas e as reações cruzadas não se aplicam ao desempenho deste sistema.

Kit do corante especial
Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Desempenho clínico

Os kits da Coloração de Metenamina de Prata de Grocott modificada da Leica Biosystems não se destinam ao uso como um meio para detectar uma doença específica ou um processo ou estado patológico. Índices de desempenho clínico, como sensibilidade diagnóstica, especificidade diagnóstica, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, razão de probabilidade, bem como os valores esperados em populações normais e afetadas não se aplicam ao uso dos agentes azuladores da Leica Biosystems no contexto clínico.

Descarte

Componentes usados ou vencidos do kit de corante GMS especial devem ser descartados de acordo com os regulamentos organizacionais, municipais, estaduais e federais vigentes.

Kit de coloração especial
Coloração de metenamina de prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Nome do produto

Kit de coloração especial de metenamina de prata de Grocott (GMS) modificada.

Finalidade a que se destina

Deteção/Medição

O kit de coloração de metenamina de prata de Grocott (GMS) modificada não deteta nem mede um analito ou marcador.

A coloração de metenamina de prata de Grocott modificada quando utilizada com protocolos histológicos apropriados pode ser usada para a demonstração de fungos e agentes infeciosos definidos, como *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, e Cryptococcus neoformans* em secções de tecido fixado em formalina e impregnado em parafina.

Função do produto

Os resultados obtidos com a utilização do kit de coloração especial GMS não oferecem evidência médica objetiva. A coloração e o contraste que o kit de coloração especial GMS da Leica Biosystems fornece a amostras histológicas permitem a visualização da anatomia microscópica. A visualização, quando interpretada por um profissional formado, é usada juntamente com outras informações, como historial médico do doente, condição física, para além dos resultados de outros exames médicos de forma a realizar um diagnóstico médico.

Informações específicas fornecidas

O kit GMS da Leica Biosystems não se destina à deteção, à definição ou à diferenciação de doenças, condições ou fatores de risco específicos. A coloração demonstrada com a utilização destes produtos, quando usados para o fim a que se destina, fornece aos profissionais formados as informações que poderão definir o estado fisiológico ou patológico da amostra do tecido.

Automação

O kit de coloração especial GMS não é automatizado, mas pode ser utilizado em plataformas de coloração automatizadas. A utilização numa plataforma automatizada deve ser validada no ponto de utilização.

Qualitativo/Quantitativo

O kit de coloração especial GMS da Leica Biosystems é uma coloração qualitativa.

Tipo de amostra

O kit de coloração especial GMS pode ser usado com qualquer amostra humana ou animal impregnada em parafina.

População de teste

O kit de coloração GMS da Leica Biosystems destina-se a ser usado em qualquer doente que requeira análise de tecido de biopsia ou ressecção para avaliação de patologia ou doença suspeitas.

Utilizador previsto

O kit de coloração especial GMS destina-se a ser usado por técnicos laboratoriais qualificados e/ou um responsável pelo laboratório.

Diagnóstico *in vitro*

O kit de coloração GMS destina-se apenas a diagnóstico *in vitro*.

Princípio de teste

O mecanismo de ação da coloração de metenamina de prata de Grocott modificada baseia-se na capacidade dos grupos aldeídos em reduzir a prata catiónica (Ag+) a prata metálica. O ácido crómico é usado para gerar grupos aldeídos pela oxidação de 1-2 grupos de glicol dentro dos componentes de tecido ricos em polissacarídeos, por ex. glicogénio, mucina, reticulina e paredes de células fúngicas. Quando a prata catiónica é adicionada à secção na forma de um complexo iónico metenamina-prata, os grupos aldeídos reduzem os iões de prata a prata metálica. As secções são subsequentemente tonalizadas com solução de cloreto de ouro para produzir ouro metálico que é mais estável do que a prata metálica e produz contraste e claridade superiores.

Devido ao forte potencial oxidante da solução de ácido crómico modificada, muitos dos grupos aldeídos resultantes são ainda oxidados em grupos de ácido carboxílico que são incapazes de reduzir a prata. Esta capacidade da solução de ácido crómico modificada tem a vantagem de reduzir reações espontâneas de colagénio e membranas basais, e produz uma forte impregnação com prata, apenas nas estruturas que possuem elevados níveis dos grupos reativos dos polissacarídeos, por ex. glicogénio, mucina e paredes de células fúngicas.

Calibradores e controlos

O kit GMS não requer a utilização de calibradores ou controlos.

Limitações do reagente

Não são aplicáveis a este produto limitações de reagente.

Kit de coloração especial
Coloração de metenamina de prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Produtos aplicáveis

Código do produto	Descrição do material
38016SS12	Kit de coloração especial de metenamina de prata de Grocott (GMS) modificada
38016SS12A	Solução de ácido crómico modificada, 500 ml
38016SS12B	Solução de bissulfito de sódio, 500 ml
38016SS12C	Solução de nirato de prata, 250 ml
38016SS12D	Solução de metenamina/bórax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solução de cloreto de ouro, 500 ml
38016SS12F	Solução de tiossulfato de sódio, 500 ml
38016SS12G	Verde-claro SF, 500 ml

Nota: (A). A solução de metenamina/bórax refrigerada (Item N.º 38016SS12D, 250 ml) não está incluída no kit GMS. Tem de ser encomendada em separado e será expedida em separado.

Materiais não incluídos

O protocolo do kit de coloração especial GMS requer a utilização de álcoois graduados, xileno ou substitutos do xileno, água desionizada ou destilada. As lâminas de controlo positivo com tecido conhecido por conter elementos fúngicos (não incluídas neste kit), devem ser incluídas em cada execução.

Dispositivos necessários

O kit de coloração especial GMS da Leica Biosystems pode ser utilizado em qualquer plataforma de coloração automatizada ou com um método de coloração manual.

Conservação e estabilidade

A solução de metenamina/bórax deve ser conservada entre 2 °C e 8 °C (36–46 °F). Conserve à temperatura ambiente, entre 15 °C e 30 °C (59-86 °F).
ATENÇÃO: Não usar após a data de validade.

Estabilidade durante o uso

A determinação da estabilidade durante a utilização fica ao critério do utilizador.

Esterilidade

Os componentes do kit de coloração especial GMS não são produtos estéreis.

Advertências e precauções

Devem seguir-se as precauções normais relativas ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, distritais ou nacionais. Consulte a ficha de dados de segurança do material e a documentação do produto quanto a informações atualizadas de risco, perigos ou segurança.

Estado de material infecioso

O kit de coloração especial GMS não inclui material infecioso. No entanto, tanto as amostras, antes e após a fixação, como todos os materiais a elas expostos devem ser manuseados como passíveis de transmitir infeções e eliminados com as devidas precauções, de acordo com as diretrizes da instalação.

Instalações especiais

O kit de coloração especial GMS deve ser utilizado de acordo com as diretrizes da instituição.

Manuseamento de amostras

Os fixadores sugeridos incluem formalina tamponada neutra 10%. Desidratação, clarificação e infiltração e impregnação de parafina de rotina e preparação de rotina de cortes com micrótomos. Uma má fixação, processamento, reidratação e corte irão afetar negativamente a qualidade da coloração. Seguidamente ao processamento e à impregnação com parafina, efetue cortes de 4 µm-6 µm.

Preparação para uso

Antes da coloração, colocar 20 ml da solução de metenamina/bórax e 20 ml da solução de nitrato de prata em copos limpos com ácidos separados. Aqueça as soluções entre 50 °C e 55 °C e imediatamente antes da impregnação com prata combine as duas soluções num frasco de coloração de coplin lavado com ácido.

Notas:

- **As soluções podem ser aquecidas utilizando banho-maria ou um forno de laboratório. Evite sobreaquecer pois a decomposição da metenamina é acelerada a temperaturas acima de 50 °C.**

Kit de coloração especial
Coloração de metenamina de prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

- Preaqueça um segundo frasco de coloração de coplin com 40 ml de água desionizada ou destilada entre 50 °C e 55 °C para ser usada como enxaguamento.

Instruções de uso

Protocolo de coloração convencional

1. Desparafine as secções de tecido com xileno e reidrate com álcoois graduados a água desionizada ou destilada.
2. Coloque as lâminas em solução de ácido crómico modificada durante 5 a 10 minutos à temperatura ambiente. Tenha em atenção: Tenha cuidado ao manusear a solução de ácido crómico modificada.
3. Enxague as lâminas em duas passagens de água da torneira.
4. Enxague as lâminas em duas passagens de água desionizada ou destilada.
5. Coloque as lâminas em solução de bissulfito de sódio durante 1 minuto.
6. Enxague as lâminas em duas passagens de água corrente da torneira durante 30 segundos.
7. Enxague as lâminas em duas passagens de água desionizada ou destilada.
8. Combine a solução de nitrato de prata e a solução de metenamina/bórax preaquecidas num frasco de coplin limpo com ácido e preaquecido.
9. Coloque as lâminas na solução de metenamina/bórax-nitrato de prata e incube durante 20 a 45 minutos entre 50 °C e 55 °C. Após 15 a 20 minutos, utilizando fórceps não metálicos, remova uma lâmina de controlo, mergulhe na água desionizada preaquecida para enxaguar, e observe microscopicamente a deposição de todos os depósitos de prata.
10. Enxague as lâminas em 6 passagens de água desionizada ou destilada.
11. Coloque as lâminas em solução de cloreto de ouro durante 5 minutos.
12. Enxague as lâminas em 3 passagens de água desionizada ou destilada.
13. Coloque as lâminas em solução de tiossulfato de sódio durante 2 minutos.
14. Enxague as lâminas minuciosamente em água corrente da torneira durante 2 minutos.
15. Coloque as lâminas em verde-claro SF durante 40 segundos.
16. Enxague as lâminas brevemente em água desionizada ou destilada.
17. Desidrate as lâminas em três passagens de álcool absoluto.
18. Clarifique as lâminas em duas trocas de xileno e monte num meio miscível com xileno.

Tabela 1. Exemplo do protocolo de coloração especial do kit de coloração GMS convencional.

Passos	Ação	Químico	Tempo (mm:ss)
1-3	Desparafinizar	Xileno	3:00
4-5	Hidratação	Álcool a 100%	2:00
6	Hidratação	Álcool a 80% ou 95%	1:00
7	Hidratação	Água desionizada	1:00
8	Coloração	Solução de ácido crómico modificada	5:00-10:00
9-10	Lavar	Água da torneira	0:30
11-12	Enxaguar	Água desionizada	0:10
13	Neutralizar	Solução de bissulfito de sódio	1:00
14	Enxaguar	Água corrente da torneira	0:30
15-16	Enxaguar	Água desionizada	0:10
17	Coloração/Impregnação	Solução de metenamina/bórax-Nitrato de prata	20:00-45:00 @ 50 °C–55 °C
18-23	Enxaguar	Água desionizada	0:10
24	Desidratação	Solução de cloreto de ouro	5:00
25-27	Enxaguar	Água desionizada	0:10
28	Coloração	Solução de tiossulfato de sódio	2:00
29	Enxaguar	Água corrente da torneira	2:00
30	Corante de contraste	Verde-claro SF	0:40
31	Enxaguar	Água desionizada	0:30
32-34	Desidratação	Álcool a 100%	2:00
35-36	Clarificar	Xileno	2:00

Kit de coloração especial
Coloração de metenamina de prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Nota: Quando utilizar um substituto do xileno, aumente os tempos de imersão em aproximadamente 50%.

Protocolo de coloração em micro-ondas

Tenha cuidado quando utilizar o micro-ondas para aquecer qualquer solução ou reagente. O micro-ondas tem de ser devidamente ventilado para impedir a acumulação de vapores no laboratório. Durante o processo de coloração, deve utilizar-se frascos de coplin transparentes e tampas para micro-ondas. As tampas devem ser aplicadas sem apertar, para prevenir derrames. Também se pode utilizar tampas com orifícios de ventilação. Todos os micro-ondas devem ser utilizados de acordo com as instruções do fabricante.

1. **Desparafine as secções de tecido com xileno e reidrate com álcoois graduados a água desionizada ou destilada.**
2. **Coloque lâminas na solução de ácido crómico e leve ao micro-ondas a 800 watts durante 10 segundos. Tenha em atenção: Tenha cuidado ao manusear a solução de ácido crómico modificada.**
3. **Misture suavemente girando o frasco de coplin e deixando repousar durante 1 minuto.**
4. **Enxague as lâminas em 6 passagens de água desionizada ou destilada.**
5. **Coloque as lâminas em solução de bissulfito de sódio durante 1 minuto.**
6. **Enxague as lâminas em 6 passagens de água desionizada ou destilada.**
7. **Combine 20 ml de solução de nitrato de prata e 20 ml de solução de metenamina/bórax num frasco de coplin de plástico limpo com ácido.**
8. **Coloque as lâminas na solução e leve ao micro-ondas a 600 watts durante 45 a 50 segundos.**
9. **Misture suavemente girando o frasco de coplin e deixando repousar durante 2 minutos.**
10. **Leve a solução ao micro-ondas durante 10 segundos a 600 watts.**
11. **Agite suavemente a solução e utilizando fórceps não metálicos remova uma lâmina de controlo, mergulhe em água desionizada preaquecida para enxaguar e observar microscopicamente se a impregnação da prata está completa. Se necessário, substitua as lâminas na solução quente de metenamina/bórax Nitrato de prata e gire durante 10 a 30 segundos.**
12. **Se necessário, repita os passos 10 e 11 até se observar um nível satisfatório de deposição da prata.**
13. **Enxague as lâminas em 6 passagens de água desionizada ou destilada.**
14. **Coloque as lâminas em solução de cloreto de ouro durante 5 minutos.**
15. **Enxague as lâminas em 3 passagens de água desionizada ou destilada.**
16. **Coloque as lâminas em solução de tiossulfato de sódio durante 2 minutos.**
17. **Enxague as lâminas minuciosamente em água corrente da torneira durante 2 minutos.**
18. **Coloque as lâminas em verde-claro SF durante 40 segundos.**
19. **Enxague as lâminas brevemente em água desionizada ou destilada.**
20. **Desidrate as lâminas em 3 passagens de álcool absoluto.**
21. **Clarifique as lâminas em 2 trocas de xileno e monte num meio miscível com xileno.**

Prontidão para uso

Depois de escolher o protocolo de coloração adequado e de criar o esquema de banheira, coloque todo o reagente no recipiente de reagente. Coloque o recipiente do reagente de volta na respetiva estação.

Controlo de qualidade

Em cada ensaio de coloração deve ser incluída uma lâmina de controlo de qualidade com tecido conhecido como contendo elementos fúngicos, fixado e processado de forma semelhante à das amostras dos testes, para garantir o desempenho do kit de coloração especial GMS, como pretendido.

Resultados esperados

- **Fungos – negro bem delineado**
- **Partes internas de micélios e hifas – taupe a rosa velho**
- **Mucina – taupe a cinzento-escuro**
- **Fundo – verde**

Desempenho analítico

Os kits de coloração de metenamina de prata de Grocott modificada da Leica Biosystems não são utilizados para detetar um analito ou marcador específico. Estes produtos são utilizados para demonstração de fungos e agentes infeciosos definidos como *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii e Cryptococcus neoformans* em secções de tecido fixado em formalina e impregnado em parafina.. Parâmetros analíticos como sensibilidade analítica, especificidade analítica, veracidade (viés), precisão (repetibilidade e reprodutibilidade), exatidão (resultante da veracidade e precisão), limites de deteção e quantificação, faixa de medição, linearidade, ponto de corte, incluindo a determinação de critérios apropriados de recolha, manuseio e controlo de amostras de interferências endógenas e exógenas relevantes conhecidas, as reações cruzadas não se aplicam ao desempenho deste sistema.

Kit de coloração especial
Coloração de metenamina de prata de Grocott modificada

REF 38016SS12

Desempenho clínico

Os kits de coloração de metenamina de prata de Grocott modificada da Leica Biosystems não se destinam a ser usados como meio de deteção de uma doença, processo patológico ou estado específico. Os índices de desempenho clínico, como sensibilidade diagnóstica, especificidade diagnóstica, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo, razão de verosimilhança e valores esperados em populações normais e afetadas, não se aplicam ao uso dos agentes de coloração a azul Leica Biosystems num contexto clínico.

Eliminação

Os componentes do kit de coloração especial GMS gastos ou cujo prazo de validade tenha expirado devem ser eliminados de acordo com os regulamentos federais, estaduais, locais e organizacionais.

Set de colorare specială
Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat

REF 38016SS12

Denumirea produsului

Set de colorare specială cu argint cu metenamină Grocott (GMS) modificat.

Domeniu de utilizare

Detectare/măsurare

Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott (GMS) modificat nu detectează sau nu măsoară un analit sau un marker. Când se utilizează conform protocoalelor de colorare histologică corespunzătoare, setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat poate fi utilizat pentru demonstrarea unor fungi și agenți infecțioși cum ar fi *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii* și *Cryptococcus neoformans* în secțiuni de țesut fixat în formalină, încorporat în parafină.

Funcția produsului

Rezultatele obținute prin utilizarea setului de colorare specială GMS nu oferă dovezi medicale obiective. Culoarea și contrastul oferite de setul de colorare specială GMS Leica Biosystems pentru probele histologice permit vizualizarea anatomiei microscopice. Această vizualizare, atunci când este interpretată de un profesionist instruit, este utilizată împreună cu alte informații precum istoricul medical al pacientului, condiția fizică, precum și cu rezultatele altor teste medicale, pentru a formula un diagnostic medical.

Informații specifice oferite

Setul GMS Leica Biosystems nu este destinat pentru detectarea, definirea sau diferențierea unei anumite tulburări, a unei anumite afecțiuni sau a unui anumit factor de risc. Colorarea prezentată prin utilizarea acestor produse, atunci când este utilizată în scopul intenționat, oferă profesioniștilor instruiți informații ce pot defini starea fiziologică sau patologică a probei tisulare.

Automatizare

Setul de colorare specială GMS nu este automatizat, dar poate fi utilizat pe platforme de colorare automatizate. Utilizarea pe o platformă automatizată trebuie validată la punctul de utilizare.

Calitativ/Cantitativ

Setul de colorare specială GMS Leica Biosystems este colorant calitativ.

Tip de probe

Setul de colorare specială GMS poate fi utilizat împreună cu orice probă umană sau animală încorporată în parafină.

Populație de testare

Setul GMS Leica Biosystems este destinat utilizării la orice pacient care necesită evaluarea țesutului biopsic sau rezecat pentru evaluarea unei patologii sau a unei boli suspectate.

Utilizator vizat

Setul de colorare specială GMS este destinat utilizării de către personalul calificat de laborator și/sau un reprezentant desemnat al laboratorului.

Diagnosticare *In Vitro*

Setul GMS este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro*.

Principiu de testare

Mecanismul de acțiune al setului de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat se bazează pe capacitatea grupurilor de aldehide de a reduce argintul cationic (Ag+) în argint metalic. Acidul cromic este utilizat pentru a genera grupe de aldehide prin oxidarea a grupurilor de 1-2 glicol din componente de țesut bogate în polizahardide, de ex. glicogen, mucină, reticulină și pereți celulari fungici. Când se adaugă argint cationic în secțiune, sub formă de complex de ioni metanemină-argint, grupurile de aldehide reduc ionii de argint în argint metalic. Secțiunile sunt apoi tonalizate cu soluție de clorură de aur pentru a se obține aur metalic, care este mai stabil decât argintul metalic și care produce un contrast și o claritate superioare.

Datorită potențialului ridicat de oxidare al soluției de acid cromic modificat, multe dintre grupele de aldehide rezultate sunt oxidate ulterior în grupe de acizi carboxilici, care nu pot reduce argintul. Această capacitate a soluției de acid cromic modificat are avantajul de a reduce reacțiile de fundal ale membranelor de colagen și bazale și de a produce o impregnare puternică cu argint doar în acele structuri care implică niveluri ridicate de grupe de polizaharide reactive, de ex. glicogen, mucină și pereți celulari fungici.

Calibratoare și mijloace de control

Setul GMS nu necesită utilizarea unor calibratoare sau mijloace de control.

Limitările reactivilor

Nu se aplică limitări reactivilor pentru acest produs.

Set de colorare specială
Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat

REF 38016SS12

Produse aplicabile

Cod produs	Descrierea materialului
38016SS12	Set de colorare specială cu argint cu metenamină Grocott (GMS) modificat
38016SS12A	Soluție de acid cromic modificat, 500 ml
38016SS12B	Soluție de bisulfit de sodiu, 500 ml
38016SS12C	Soluție de nitrat de argint, 250 ml
38016SS12D	Soluție de metenamină/borax, 250 ml (A)
38016SS12E	Soluție de clorură de aur, 500 ml
38016SS12F	Soluție de tiosulfat de sodiu, 500 ml
38016SS12G	Verde deschis SF, 500 ml

Notă: (A). Soluția de metenamină/borax refrigerată (nr. articol 38016SS12D, 250 ml) nu este inclusă în setul GMS. Articolul trebuie comandat separat și va fi livrat separat.

Materiale care nu sunt incluse

Pentru protocolul pentru setul de colorare specială GMS este necesară utilizarea de alcool de diferite grade, xilen sau substituenți de xilen, apă denionizată sau distilată. Lamela/lamelele de control pozitivă/pozitive de țesut care se cunoaște că conține elemente fungice (neincluse în acest set) trebuie incluse în fiecare etapă.

Dispozitive necesare

Setul de colorare specială GMS Leica Biosystems poate fi utilizat pe orice platformă de colorare automatizată sau cu o metodă de colorare manuală.

Depozitare și stabilitate

Soluția de metenamină/borax trebuie depozitată la 2 - 8 °C (36 - 46 °F). Depozitați celelalte componente la temperatura camerei 15 - 30 °C (59 - 86 °F).
ATENȚIE: A nu se utiliza după data de expirare.

Stabilitatea în timpul utilizării

Utilizatorul trebuie să-și folosească discernământul la determinarea stabilității în timpul utilizării.

Sterilitate

Componentele setului de colorare specială GMS nu sunt produse sterile.

Avertismente/precauții

Trebuie respectate măsurile de precauție normale aplicate la manevrarea reactivilor de laborator. Eliminați deșeurile respectând toate reglementările locale, ale statului, regionale sau naționale. Consultați Fișa de informații de siguranță pentru material și eticheta produsului pentru orice informații actualizate privind riscul, pericolul sau siguranța.

Starea materialului infecțios

Setul de colorare specială GMS nu include niciun fel de materiale infecțioase. Totuși, probele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manevrate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție corespunzătoare regulilor unității.

Condiții speciale

Setul de colorare specială GMS trebuie utilizat în conformitate cu liniile directoare ale unității.

Manevrarea probelor

Fixatorii sugerați includ formalină neutră în soluție tampon 10%. Deshidratarea de rutină, curățarea și infiltrarea și încorporarea parafinei și pregătirea de rutină a secțiunilor de microtomi. Fixarea, prelucrarea, rehidratarea și secționarea deficitare vor afecta negativ calitatea colorării. După procesare și încorporarea parafinei, tăiați secțiunile la 4 - 6 microni.

Pregătirea pentru utilizare

Înainte de colorare, introduceți 20 ml de soluție de metenamină/borax și 20 ml de soluție de nitrat de argint în recipiente separate curățate cu acid. Încălziți soluțiile la 50 - 55 °C și, chiar înainte de impregnarea cu argint, combinați cele două soluții într-un borcan Coplin spălat cu acid.

Note:

- **Soluțiile se pot încălzi folosind o baie cu apă sau un cuptor de laborator. Evitați supraîncălzirea, deoarece descompunerea metenaminei este accelerată la temperaturi de peste 50 °C.**
- **Preîncălziți un al doilea borcan Coplin cu 40 ml de apă deionizată sau distilată la 50 - 55 °C pentru a fi utilizată pentru clătire.**

Set de colorare specială
Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat

REF 38016SS12

Instrucțiuni de utilizare

Protocolul convențional de colorare

1. **Eliminați parafina din secțiunile de țesut cu xilen și rehidratați cu alcool de diferite grade până la apă deionizată sau distilată.**
2. **Introduceți lamelele în soluție de acid cromic modificat timp de 5 - 10 minute, la temperatura camerei.**
   Vă rugăm să rețineți: Fiți atenți atunci când manipulați soluția de acid cromic modificat.
3. **Clătiți lamelele în două șarje de apă de la robinet.**
4. **Clătiți lamelele în două șarje de apă deionizată sau distilată.**
5. **Introduceți lamelele în soluție de bisulfit de sodiu timp de 1 minut.**
6. **Clătiți lamelele sub jet de apă de la robinet timp de 30 de secunde.**
7. **Clătiți lamelele în două șarje de apă deionizată sau distilată.**
8. **Combinați soluția de nitrat de argint preîncălzită și soluția de metenamină/borax într-un borcan Coplin preîncălzit, curățat cu acid.**
9. **Introduceți lamelele în soluție de metenamină/borax - nitrat de argint și incubați timp de 20 - 45 de minute la 50 - 55 °C.**
   După 15 - 20 de minute, folosind pensa non-metalică, scoateți o lamelă de control, scufundați-o în apa deionizată preîncălzită pentru a o clăti, apoi verificați microscopic dacă s-a încheiat depunerea argintului.
10. **Clătiți lamelele în 6 șarje de apă deionizată sau distilată.**
11. **Introduceți lamelele în soluție de clorură de aur timp de 5 minute.**
12. **Clătiți lamelele în 3 șarje de apă deionizată sau distilată.**
13. **Introduceți lamelele în soluție de tiosulfat de sodiu timp de 2 minute.**
14. **Clătiți bine lamelele sub jet de apă de la robinet timp de 2 minute.**
15. **Introduceți lamelele în verde deschis SF timp de 40 de secunde.**
16. **Clătiți scurt lamelele în apă deionizată sau distilată.**
17. **Deshidratați lamelele în trei șarje de alcool absolut.**
18. **Curățați lamelele în două șarje de xilen și fixați într-un mediu care se poate combina cu xilen.**

Tabelul 1. Exemplu de protocol convențional de colorare cu setul de colorare specială GMS.

Pași	Acțiune	Agenți chimici	Timp (mm:ss)
1-3	Eliminarea parafinei	Xilen	3:00
4-5	Hidratare	Alcool 100%	2:00
6	Hidratare	Alcool 80% sau 95%	1:00
7	Hidratare	Apă deionizată	1:00
8	Colorare	Soluție de acid cromic modificat	5:00-10:00
9-10	Spălare	Apă de la robinet	0:30
11-12	Clătire	Apă deionizată	0:10
13	Neutralizare	Soluție de bisulfit de sodiu	1:00
14	Clătire	Jet apă de la robinet	0:30
15-16	Clătire	Apă deionizată	0:10
17	Colorare/Impregnare	Soluție de metenamină/borax - nitrat de argint	20:00-45:00 la 50–55 °C
18-23	Clătire	Apă deionizată	0:10
24	Deshidratare	Soluție de clorură de aur	5:00
25-27	Clătire	Apă deionizată	0:10
28	Colorare	Soluție de tiosulfat de sodiu	2:00
29	Clătire	Jet apă de la robinet	2:00
30	Contracolorare	Verde deschis SF	0:40
31	Clătire	Apă deionizată	0:30
32-34	Deshidratare	Alcool 100%	2:00
35-36	Curățare	Xilen	2:00

Notă: Când se utilizează un substitut de xilen, creșteți timpii de scufundare cu aproximativ 50%.

Set de colorare specială
Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat

REF 38016SS12

Protocol de colorare folosind cuptorul cu microunde

Fiți atenți atunci când utilizați cuptorul cu microunde pentru a încălzi orice soluție sau reactiv. Cuptorul cu microunde trebuie să fie corect ventilat pentru a împiedica acumularea de noxe în laborator. În timpul procesului de colorare trebuie utilizate borcanele și capacele Coplin transparente pentru cuptorul cu microunde. Capacele trebuie aplicate fără să fie fixate pentru a împiedica vărsarea. De asemenea, se pot utiliza și capace cu orificii de ventilare. Toate cuptoarele cu microunde trebuie utilizate în conformitate cu instrucțiunile producătorului.

1. **Eliminați parafina din secțiunile de țesut cu xilen și rehidratați cu alcool de diferite grade până la apă deionizată sau distilată.**
2. **Introduceți lamelele în soluție de acid cromic modificat și introduceți-le în cuptorul cu microunde la 800 wați timp de 10 secunde.**
   Vă rugăm să rețineți: Fiți atenți atunci când manipulați soluția de acid cromic modificat.
3. **Amestecați ușor răsucind borcanul Coplin și lăsați-o să se așeze timp de 1 minut.**
4. **Clătiți lamelele în 6 șarje de apă deionizată sau distilată.**
5. **Introduceți lamelele în soluție de bisulfit de sodiu timp de 1 minut.**
6. **Clătiți lamelele în 6 șarje de apă deionizată sau distilată.**
7. **Combinați 20 ml de soluție de nitrat de argint și 20 ml de soluție de metenamină/borax într-un borcan Coplin de plastic curățat cu acid.**
8. **Introduceți lamelele în soluție și apoi în cuptorul cu microunde la 600 wați timp de 45 - 50 secunde.**
9. **Amestecați ușor răsucind borcanul Coplin și lăsați să se așeze timp de 2 minute.**
10. **Introduceți soluția în cuptorul cu microunde timp de 10 secunde la 600 wați.**
11. **Agitați ușor soluția și, folosind pensa non-metalică, scoateți o lamelă de control, scufundați-o în apă deionizată preîncălzită pentru a o clăti, apoi verificați microscopic dacă s-a încheiat impregnarea cu argint. Dacă este necesar, introduceți din nou lamelele în soluția de metenamină/borax - nitrat de argint caldă și amestecați timp de 10 - 30 de secunde.**
12. **Dacă este necesar, repetați pașii 10 și 11 până se atinge un nivel satisfăcător de depunere a argintului.**
13. **Clătiți lamelele în 6 șarje de apă deionizată sau distilată.**
14. **Introduceți lamelele în soluție de clorură de aur timp de 5 minute.**
15. **Clătiți lamelele în 3 șarje de apă deionizată sau distilată.**
16. **Introduceți lamelele în soluție de tiosulfat de sodiu timp de 2 minute.**
17. **Clătiți bine lamelele sub jet de apă de la robinet timp de 2 minute.**
18. **Introduceți lamelele în verde deschis SF timp de 40 de secunde.**
19. **Clătiți scurt lamelele în apă deionizată sau distilată.**
20. **Deshidratați lamelele în 3 șarje de alcool absolut.**
21. **Curățați lamelele în 2 șarje de xilen și fixați într-un mediu care se poate combina cu xilen.**

Disponibilitatea pentru utilizare

După ce alegeți protocolul adecvat de colorare și creați aspectul băii, turnați tot reactivul în recipientul de reactiv. Așezați recipientul de reactiv înapoi în stația corespunzătoare.

Controlul calității

În fiecare analiză de colorare trebuie incluse lamele de controlul calității cu țesut care se cunoaște că conține elemente fungice, fixate și prelucrate în mod similar cu probele de testare, pentru a se asigura că setul de colorare specială GMS are un randament adecvat.

Rezultate așteptate

- **Fungi - negru delimitat subțire**
- **Părți interioare de miceli și hife - taupe până la roz prăfuit**
- **Mucină - taupe până la gri închis**
- **Fundal - verde**

Performanța analitică

Seturile de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificate de la Leica Biosystems nu sunt utilizate pentru a detecta un anumit analit sau marker. Aceste produse sunt utilizate pentru demonstrarea unor anumiți fungi și agenți infecțioși, cum ar fi *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii* și *Cryptococcus neoformans* în secțiuni de țesut fixat în formalină, încorporat în parafină. Parametrii analitici, precum sensibilitatea analitică, specificitatea analitică, veridicitatea (eroare sistematică), precizia (repetabilitatea și reproductibiliatea), acuratețea (rezultată din veridicitate și precizie), limitele de detectare și cuantificare,

măsurarea intervalului, liniaritatea, separarea, inclusiv determinarea criteriilor potrivite pentru colectarea și manevrarea probei și controlul interfețelor relevante endogene și exogene cunoscute, reacțiile încrucișate nu se aplică performanței acestui sistem.

Set de colorare specială
Setul de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificat

REF 38016SS12

Performanța clinică

Seturile de colorare cu argint cu metenamină Grocott modificate de la Leica Biosystems nu sunt destinate utilizării ca modalitate de detectare a unei anumite boli sau a unui anumit proces ori a unei anumite stări de natură patologică. Indicii de performanță clinică, precum sensibilitatea diagnosticării, specificitatea diagnosticării, valoarea de predicție pozitivă, valoarea de predicție negativă, raportul de probabilitate, precum și valorile anticipate ale populației obișnuite și ale celei afectate, nu se aplică utilizării agenților de albăstrire Leica Biosystems în condiții clinice.

Eliminare

Componentele consumate sau expirate ale setului de colorare specială GMS trebuie eliminate în conformitate cu reglementările organizaționale, locale, naționale și federale.

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

Наименование продукта

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту (Grocott's Methenamine Silver, GMS)

Область применения

Обнаружение или измерение

Набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту (Grocott's Methenamine Silver, GMS) не обнаруживает и не измеряет содержание анализируемых веществ или маркеров.

Набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту при использовании с соответствующими гистологическими протоколами можно использовать для выявления определенных грибков и возбудителей инфекций, таких как *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, и Cryptococcus neoformans* в фиксированных формалином и залитых парафином срезах тканей.

Функциональное назначение продукта

Результаты, полученные с применением специального набора для окрашивания методом GMS, не содержат объективных медицинских данных. Обеспечиваемое специальным набором для окрашивания методом GMS компании Leica Biosystems окрашивание и контрастирование образцов для гистологического и цитологического исследования позволяет визуализировать микроскопические структуры. Такая визуализация, интерпретированная квалифицированным специалистом, используется наряду с другой информацией, такой, как данные истории болезни пациента, показатели физического состояния и результаты других медицинских исследований для постановки медицинского диагноза.

Специальные характеристики

Специальный набор для окрашивания методом GMS компании Leica Biosystems не предназначен для обнаружения, определения или дифференцирования конкретного нарушения, состояния или фактора риска. Окрашивание, выполненное с помощью этих продуктов, при их использовании по назначению предоставляет квалифицированным специалистам информацию, позволяющую определить физиологическое или патологическое состояние образца ткани.

Автоматизация

Специальный набор для окрашивания методом GMS не является автоматизированным, но может использоваться на автоматических платформах. Использование на автоматизированных платформах подлежит валидации в месте применения.

Качественные или количественные характеристики

Специальный набор для окрашивания методом GMS компании Leica Biosystems является красителем для качественного определения.

Тип образца

Специальный набор для окрашивания методом GMS может использоваться с любыми образцами человека или животного, залитыми в парафин.

Популяция тестирования

Специальный набор для окрашивания методом GMS компании Leica Biosystems предназначен для применения у любых пациентов, нуждающихся в исследовании биопсийных или резецированных образцов тканей с целью определения подозреваемой патологии или заболевания.

Целевой пользователь

Специальный набор для окрашивания методом GMS предназначен для использования квалифицированным персоналом лаборатории и/или уполномоченным лицом лаборатории.

Диагностика *in vitro*

Набор GMS предназначен только для диагностики *in vitro*.

Принцип выполнения теста

Механизм окрашивания (импрегнации) модифицированным методом импрегнации по Грокотту основан на способности альдегидных групп восстанавливать катионы серебра (Ag+) до металлического серебра. Для образования альдегидных групп путем окисления 1–2 гликольных групп в тканевых компонентах, богатых полисахаридами, таких как гликоген, муцин, ретикулин и клеточные стенки грибов, используется хромовая кислота. При обработке срезов катионным серебром в форме комплекса метенамин-ион серебра альдегидные группы восстанавливают ионы серебра до металлического серебра. Затем срезы тонируются раствором хлорида золота для получения металлического золота, которое более стабильно, чем металлическое серебро, и обеспечивает превосходный контраст и четкость.

Из-за сильного окислительного потенциала модифицированного раствора хромовой кислоты многие из образующихся альдегидных групп дополнительно окисляются до групп карбоновых кислот, которые неспособны восстанавливать серебро. Эта способность модифицированного раствора хромовой кислоты дает преимущество, так как снижает фоновые реакции коллагеновых и базальных мембран и обеспечивает сильную импрегнацию серебром только тех структур, которые содержат реакционноспособные полисахаридные группы в высоких концентрациях — гликогена, муцина и клеточных стенок грибов.

Калибраторы и контроли

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

Набор GMS не требует использования калибраторов или контролей.

Ограничения по реагентам

К данному продукту не применимы какие-либо ограничения по реактивам.

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

Применимые продукты

Код продукта	Описание материала
38016SS12	Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту (GMS)
38016SS12A	Модифицированный раствор хромовой кислоты, 500 мл
38016SS12B	Раствор гидросульфита натрия, 500 мл
38016SS12C	Раствор нитрата серебра, 250 мл
38016SS12D	Раствор уротропина/натрия тетрабората, 250 мл (A)
38016SS12E	Раствор хлорида золота, 500 мл
38016SS12F	Раствор натрия тиосульфата, 500 мл
38016SS12G	Краситель светло-зеленый SF, 500 мл

Примечание. (A). Охлажденный раствор уротропина/натрия тетрабората (№ 38016SS12D, 250 мл) не включен в набор GMS. Его необходимо заказывать отдельно и он будет поставлен отдельно.

Материалы, не входящие в комплект поставки

Протокол специального набора для окрашивания GMS требует использования спиртов с нарастающей концентрацией, ксилола или его заменителей, деионизированной или дистиллированной воды. Положительный контрольный микропрепарат(-ы) ткани, достоверно содержащей грибковый материал, не включенный в данный набор, должен использоваться в каждом цикле.

Необходимые устройства

Специальный набор для окрашивания GMS компании Leica Biosystems могут использоваться на любой автоматизированной платформе для окрашивания или в любых ручных методиках окрашивания.

Хранение и стабильность

Раствор уротропина/натрия тетрабората следует хранить при температуре 2–8 °C (36–46 °F). Хранить другие компоненты при комнатной температуре 15–30 °C (59–86 °F).
ВНИМАНИЕ! Не используйте после истечения срока годности.

Стабильность во время использования

Стабильность в процессе применения следует контролировать пользователю.

Стерильность

Компоненты специального набора для окрашивания GMS не являются стерильными продуктами.

Предупреждения и меры предосторожности

Необходимо соблюдать обычные меры предосторожности при использовании лабораторных реактивов. Отходы удаляются с соблюдением местных законодательных нормативов, а также нормативов, принятых на региональном или федеральном уровне. Смотрите этикетку продукта и паспорт безопасности материала для получения информации в отношении рисков, угроз или безопасности Информация.

Статус инфицирующего материала

Специальный набор для окрашивания GMS не содержит инфицирующего материала. Однако образцы до и после фиксации, а также все контактирующие с ними материалы следует считать способными к передаче инфекции; и при их удалении в отходы следует соблюдать надлежащие меры предосторожности согласно инструкциям вашего учреждения.

Объекты специального назначения

Специальный набор для окрашивания GMS должен использоваться в соответствии с правилами данного учреждения.

Обращение с образцами

К числу рекомендованных фиксаторов относится 10% нейтральный забуференный формалин. Обычные процедуры дегидратации, очистки, пропитывания и заливки парафином, а также обычное приготовление срезов на микротоме. Плохое выполнение фиксации, регидратации и приготовления срезов отрицательно влияет на качество окрашивания. После обработки и заливки парафином сделать срезы толщиной 4–6 мкм.

Подготовка к применению

До выполнения окрашивания поместить 20 мл раствора уротропина/натрия тетрабората и 20 мл раствора нитрата серебра в лабораторные стаканы, очищенные кислотой. Нагреть растворы до 50–55 °C и непосредственно до этапа импрегнации серебра объединить оба раствора в сосуде Coplin, очищенном кислотой.

Примечания:

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

- **Растворы можно нагревать на водяной бане или в лабораторной печи. Не допускайте перегрева, так так при температуре выше 50 °C ускоряется распад уротропина.**
- **Разогреть второй сосуд Coplin с 40 мл деионизированной или дистиллированной воды до 50–55 °C, чтобы использовать ее для ополаскивания.**

Указания по применению

Обычный протокол окрашивания

1. Выполнить депарафинизацию срезов тканей ксилолом, и регидратацию от спирта с повышающейся концентрацией до деионизированной или дистилированной воды.
2. **Поместить микропрепараты в модифицированный раствор хромовой кислоты на 5–10 минут при комнатной температуре**
   Примечание. Соблюдайте осторожность при работе с модифицированным раствором хромовой кислоты.
3. **Ополоснуть микропрепараты в двух сменах водопроводной воды.**
4. **Ополоснуть микропрепараты в двух сменах деионизированной или дистилированной воды.**
5. **Поместить микропрепараты в раствор гидросульфита натрия на 1 минуту.**
6. **Ополоснуть водой из-под крана в течение 30 секунд.**
7. **Ополоснуть микропрепараты в двух сменах деионизированной или дистилированной воды.**
8. **Объединить предварительно нагретые растворы нитрата серебра и уротропина/натрия тетрабората в предварительно нагретом сосуде Coplin, очищенном кислотой.**
9. **Поместить микропрепараты в раствор уротропина/натрия тетрабората-нитрата серебра и инкубировать в течение 20–45 минут при 50–55 °C. Через 15–20 минут удалить контрольный микропрепарат, используя неметаллический пинцет, погрузить его в предварительно нагретую деонизированную воду для ополаскивания и проверить под микроскопом для оценки завершения осаждения серебра.**
10. **Ополоснуть микропрепараты в 6 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
11. **Поместить микропрепараты в раствор хлорида золота на 5 минут.**
12. **Ополоснуть микропрепараты в 3 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
13. **Поместить микропрепараты в раствор тиосульфата натрия на 2 минуты.**
14. **Тщательно ополоснуть проточной водой из-под крана в течение 2 минут.**
15. **Поместить микропрепараты в краситель светло-зеленый SF на 40 секунд.**
16. **Быстро ополоснуть микропрепараты в деионизированной или дистиллированной воде.**
17. **Дегидрировать микропрепараты в трех сменах абсолютного спирта.**
18. **Осветлить микропрепараты в двух сменах ксилола и фиксировать в среде для заключения, совместимой с ксилолом.**

Таблица 1. Пример стандартного протокола окрашивания при помощи специального набора для окрашивания методом GMS.

Этап	Действие	Реактив	Время (мин:с)
1–3	Депарафинирование	Ксилол	3:00
4–5	Гидратация	100% спирт	2:00
6	Гидратация	80% или 95% спирт	1:00
7	Гидратация	Деионизированная вода	1:00
8	Окрашивание	Модифицированный раствор хромовой кислоты	5:00-10:00
9–10	Промывка	Водопроводная вода	0:30
11–12	Ополаскивание	Деионизированная вода	0:10
13	Нейтрализация	Раствор гидросульфита натрия	1:00
14	Ополаскивание	Проточная водопроводная вода	0:30
15–16	Ополаскивание	Деионизированная вода	0:10
17	Окрашивание/импрегнация	Раствор уротропина/натрия тетрабората-нитрата серебра	20:00–45:00 при 50–55 °C
18-23	Ополаскивание	Деионизированная вода	0:10
24	Дегидратация	Раствор сульфата золота	5:00
25–27	Ополаскивание	Деионизированная вода	0:10
28	Окрашивание	Раствор натрия тиосульфата	2:00

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

29	Ополаскивание	Проточная водопроводная вода	2:00
30	Контрокрашивание	Краситель светло-зеленый SF	0:40
31	Ополаскивание	Деионизированная вода	0:30
32–34	Дегидратация	100% спирт	2:00
35–36	Осветление	Ксилол	2:00

Примечание. При использовании заменителя ксилола время погружения увеличивают примерно на 50%.

Протокол окрашивания с использованием СВЧ

При использовании СВЧ проявляйте осторожность при нагреве растворов или реактивов. СВЧ-печь должна хорошо вентилироваться для предотвращения накопления выделяемых газов в лаборатории. Во время процесса окрашивания следует использовать прозрачные сосуды Coplin и крышки для СВЧ. Крышки должны прилегать неплотно во избежание разбрызгивания. Можно также использовать крышки с вентиляционными отверстиями. Все СВЧ устройства должны использоваться в соответствии с указаниями производителя.

1. Выполнить депарафинизацию срезов тканей ксилолом, и регидратацию от спирта с повышающейся концентрацией до деионизированной или дистилированной воды.
2. **Поместить микропрепараты в модифицированный раствор хромовой кислоты и подвергнуть микроволновому воздействию при 800 Вт в течение 10 секунд.**
   Примечание. Соблюдайте осторожность при работе с модифицированным раствором хромовой кислоты.
3. **Осторожно перемешать вращением сосуда Coplin и оставить отстояться на 1 мин.**
4. **Ополоснуть микропрепараты в 6 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
5. **Поместить микропрепараты в раствор гидросульфита натрия на 1 минуту.**
6. **Ополоснуть микропрепараты в 6 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
7. **Объединить 20 мл раствора уротропина/натрия тетрабората и 20 мл раствора нитрата серебра в пластиковый сосуд Coplin, очищенный кислотой.**
8. **Поместить микропрепараты в раствор и подвергнуть микроволновому воздействию при 600 Вт в течение 45–50 секунд.**
9. **Осторожно перемешать вращением сосуда Coplin и оставить отстояться на 2 мин.**
10. **Подвергнуть раствор микроволновому воздействию при 600 Вт в течение 10 секунд.**
11. **Аккуратно встряхнуть раствор и удалить контрольный микропрепарат, используя неметаллический пинцет, погрузить его в предварительно нагретую деонизированную воду для ополаскивания и проверить под микроскопом для оценки завершения осаждения серебра. При необходимости поместить микропрепараты в теплый раствор уротропина/натрия тетрабората- нитрата серебра и аккуратно повращать в течение 10–30 секунд.**
12. **При необходимости повторить действия 10 и 11 до достижения достаточного уровня осаждения серебра.**
13. **Ополоснуть микропрепараты в 6 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
14. **Поместить микропрепараты в раствор хлорида золота на 5 минут.**
15. **Ополоснуть микропрепараты в 3 сменах деионизированной или дистиллированной воды.**
16. **Поместить микропрепараты в раствор тиосульфата натрия на 2 минуты.**
17. **Тщательно ополоснуть проточной водой из-под крана в течение 2 минут.**
18. **Поместить микропрепараты в краситель светло-зеленый SF на 40 секунд.**
19. **Быстро ополоснуть микропрепараты в деионизированной или дистиллированной воде.**
20. **Дегидрировать микропрепараты в 3 сменах абсолютного спирта.**
21. **Осветлить в 2 сменах ксилола и фиксировать в среде для заключения, совместимой с ксилолом.**

Готовность к использованию

После избрания надлежащего протокола окрашивания и создания набора емкостей залейте весь реактив в сосуд для реактивов. Поместите сосуд для реактивов обратно в соответствующую установку.

Контроль качества

С целью убедиться, что специальный набор для окрашивания методом GMS функционирует надлежащим образом, в каждый цикл окрашивания наряду с исследуемыми образцами должны быть включены контрольные микропрепараты тканей (достоверно содержащие грибковый материал), фиксированные и обработанные по сходной методике.

Ожидаемые результаты

- **Грибы — резко очерченное черное окрашивание**
- **Внутренние части мицелия и гиф — от серо-коричневого до розово-лилового цвета**
- **Муцин — от серо-кориченового до темно-серого цвета**
- **Фоновое окрашивание — зеленый цвет**

Аналитические функциональные характеристики

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

Наборы для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту компании Leica Biosystems не применяются для обнаружения конкретных анализируемых веществ или маркеров. Эти изделия можно использовать для выявления определенных грибков и возбудителей инфекций, таких как *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, и Cryptococcus neoformans* в фиксированных формалином и залитых парафином срезах тканей. Такие аналитические параметры, как аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, правильность (систематическая ошибка), прецизионность (повторяемость и воспроизводимость), точность (на основе правильности и прецизионности), пределы обнаружения и количественного определения, диапазон измерения, линейность, отсечка, включая определение соответствующих критериев взятия образцов и обращения с ними, а также контроль релевантных эндогенных и экзогенных помех и перекрестных реакций не являются факторами, определяющими функциональные характеристики данной системы.

Специальный набор для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту

REF 38016SS12

Клинические функциональные характеристики

Наборы для окрашивания модифицированным методом импрегнации по Грокотту компании Leica Biosystems не предназначены для применения в качестве средств обнаружения конкретного заболевания, патологического процесса или состояния. К клиническому использованию подсинивающих реактивов компании Leica Biosystems не применимы такие показатели функциональных клинических характеристик, как диагностическая чувствительность, диагностическая специфичность, прогностическая значимость положительного результата, прогностическая значимость отрицательного результата, отношение правдоподобия, а также ожидаемые значения в нормальной и аномальной популяциях.

Удаление в отходы

Отработанные или просроченные компоненты специального набора для окрашивания методом GMS следует удалять в отходы в соответствии с правилами и нормативами, принятыми в организации, а также на местном, региональном или федеральном уровне.

Komplet za barvanje
Modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom

REF 38016SS12

Ime izdelka

Komplet za barvanje modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom (GMS).

Predvidena uporaba

Zaznavanje/merjenje
Komplet za barvanje modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom (GMS) ne zaznava in ne meri analita ali markerja.
Ko se modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom uporablja z ustreznimi histološkimi protokoli, se z njim dokazujejo definirane glivice in kužni povzročitelji, kot so *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, in Cryptococcus neoformans* v rezinah tkiva, fiksiranih s formalinom in vdelanih v parafin.
Namen izdelka
Rezultati, dobljeni z uporabo kompleta za barvanje GMS, ne dajejo objektivnih medicinskih dokazov. Obarvanje in kontrast barvil kompleta za barvanje GMS Leica Biosystems za histološke vzorce zagotavlja vizualizacijo mikroskopske anatomije. Ta vizualizacija, ki jo pregleda usposobljeni strokovnjak, se skupaj z drugimi podatki, kot so bolnikova anamneza, fizično stanje in rezultati drugih medicinskih preiskav, izkorišča za podajanje diagnoze bolezni.
Zagotovljeni specifični podatki
Komplet za barvanje GMS Leica Biosystems ni namenjen za zaznavanje, določanje ali diferenciacijo točno določene motnje, stanja ali dejavnikov tveganja. Obarvanje, ki se pokaže z uporabo teh izdelkov, ko ga uporabljate v skladu s predvideno uporabo, usposobljenim strokovnjakom zagotavlja podatke, ki lahko opredelijo fiziološko ali patološko stanje tkivnega vzorca.
Avtomatizacija
Komplet za barvanje GMS ni avtomatiziran, a se lahko uporablja na avtomatiziranih platformah za barvanje. Na tej točki uporabe je treba oceniti primernost uporabe avtomatizirane platforme.
Kvalitativno/kvantitativno barvanje
Komplet za barvanje GMS komplet za barvanje GMS Leica Biosystems je kvalitativno barvilo.
Tip vzorca
Komplet za barvanje GMS Leica Biosystems se lahko uporablja s humanim ali živalskim vzorcem, vdelanim v parafin.
Populacija za preskušanje
Komplet za barvanje GMS Leica Biosystems je namenjen za uporabo pri vseh bolnikih, pri katerih je treba oceniti tkiva iz biopsije ali resekcije za oceno suma na patološki proces ali bolezen.
Predvideni uporabnik
Predvideno je, da kompleta za barvanje GMS uporablja kvalificirano laboratorijsko osebje in/ali oseba, ki je pridobila pooblastilo laboratorija.

Diagnostika *in vitro*

Komplet za barvanje GMS Kit je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro*.

Princip preskušanja

Mehanizem delovanja modificiranega Grocottovega obarvanja z metenaminskim srebrom temelji na sposobnosti aldehidnih skupin, da reducirajo kationsko srebro (Ag +) v kovinsko srebro. Kromova kislina se uporablja za tvorbo aldehidnih skupin z oksidacijo 1-2 glikolnih skupin v komponentah tkiva, bogatih s polisaharidi, kot so npr. glikogen, mucin, retikulin in glivične celične stene. Ko k rezini dodamo kationsko srebro v obliki ionskega kompleksa metenamin-srebro, aldehidne skupine reducirajo srebrne ione v kovinsko srebro. Rezine nato toniramo z raztopino zlatega klorida, da dobimo kovinsko zlato, ki je bolj stabilno kot kovinsko srebro in daje vrhunski kontrast in jasnost.
Zaradi močnega oksidacijskega potenciala modificirane raztopine kromove kisline se številne nastale aldehidne skupine dodatno oksidirajo v karboksilne kislinske skupine, ki niso sposobne reducirati srebra. Ta sposobnost spremenjene raztopine kromove kisline ima prednost, da zmanjša ozadne reakcije kolagena in bazalnih membran in povzroči močno impregnacijo s srebrom samo v tistih strukturah, ki imajo visoko raven reaktivnih polisaharidnih skupin, npr. glikogena, mucina in glivičnih celičnih sten.

Kalibracijska sredstva in kontrole

Komplet za barvanje GMS Kit ne potrebuje uporabe kalibratorjev ali kontrol.

Omejitve reagenta

Za ta izdelek ne veljajo nobene omejitve reagentov.

Komplet za barvanje
Modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom

REF 38016SS12

Primerni izdelki

Oznaka izdelka	Opis materiala
38016SS12	Komplet za barvanje modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom (GMS)
38016SS12A	Modificirana raztopina kromove kisline, 500 ml
38016SS12B	Raztopina natrijevega bisulfita, 500 ml
38016SS12C	Raztopina srebrovega nitrata, 250 ml
38016SS12D	Raztopina metenamin/boraks, 250 ml (A)
38016SS12E	Raztopina zlatovega klorida, 500 ml
38016SS12F	Raztopina natrijevega tiosulfata, 500 ml
38016SS12G	Svetlo zelena SF, 500 ml

Opomba: (A). Hlajena raztopina metenamin/boraks (št. postavke 38016SS12D, 250 ml) ni vključena v komplet GMS Kit. Postavko je treba naročiti ločeno in se pošlje ločeno.

Materiali, ki niso vključeni

Protokol kompleta za barvanje GMS zahteva uporabo razvrščenih alkoholov, ksilena ali nadomestkov ksilena, deionizirane ali destilirane vode. Pozitiven(-ni) kontrolni preparat(-i) s tkivom, ki vsebuje glivične elemente (niso vključeni v ta komplet), morajo biti vključeni v vsak tek.

Zahtevane naprave

Komplet za barvanje GMS Leica Biosystems se lahko uporabljajo na vseh avtomatiziranih platformah za barvanje ali z ročno metodo barvanja.

Skladiščenje in stabilnost

Raztopino Methenamine/Borax Solution je treba hraniti pri 2–8 °C (36–46 °F). Druge sestavne dele shranjujte pri sobni temperaturi 15–30 °C (59–86 °F).
POZOR: Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti.

Stabilnost med uporabo

Uporabniki morajo sami presoditi o določanju stabilnosti med uporabo.

Sterilnost

Komponente kompleta za barvanje GMS niso sterilni izdelki.

Opozorila in previdnostni ukrepi

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranjujte v skladu z lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi. Za posodobljena tveganja, nevarnosti ali varnostne informacije glejte varnostni list in informacije o varnosti izdelkov.

Status kužnega materiala

Komplet za barvanje GMS ne vsebuje kužnega materiala. Vendar pa morate z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli z njimi v stik, rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju slediti ustreznim previdnostnim ukrepom v skladu s smernicami ustanove.

Posebni pripomočki

Komplet za barvanje GMS je treba uporabljati v skladu s smernicami ustanove.

Ravnanje z vzorci

Priporočena sredstva za fiksacijo vključujejo 10-% nevralno pufrani formalin. Rutinska dehidracija, čiščenje in infiltracija s parafinom ter vklapljanje in rutinska priprava rezin z mikrotomom. Slaba fiksacija, obdelava, rehidracija in priprava rezin imajo negativen vpliv na kakovost obarvanja. Po obdelavi in vklapljanju v parafin narežite 4–6 mikronov debele rezine.

Priprava na uporabo

Pred obarvanjem dajte 20 ml raztopine metenamina/boraksa in 20 ml raztopine srebrovega nitrata v ločene čaše, očiščene s kislino. Raztopine segrejte na 50–55 °C in tik pred impregnacijo srebra združite obe raztopini v kozarcu Coplin, opranem s kislino.

Opombe:

- **Raztopine lahko segrevamo z vodno kopeljo ali v laboratorijski peči. Izogibajte se pregrevanju, saj temperature nad 50 °C pospešijo razgradnjo metenamina.**
- **Drugi kozarec Coplin segrejte s 40 ml deionizirane ali destilirane vode na 50–55 °C, ki jo boste uporabili za splakovanje.**

Komplet za barvanje
Modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom

REF 38016SS12

Navodila za uporabo

Običajen protokol barvanja

1. Rezine tkiva deparafinizirajte s ksilenom in rehidrirajte v deionizirano ali destilirano vodo z razvrščenimi alkoholi.
2. Stekelca položite v modificirano raztopino kromove kisline za 5–10 minut pri sobni temperaturi.
   Opomba: Pri ravnanju z raztopino Modified Chromic Acid Solution bodite previdni.
3. Stekelca splaknite z dvema cikloma vode iz pipe.
4. Stekelca splaknite z dvema cikloma deionizirane ali destilirane vode.
5. Stekelca položite v raztopino natrijevega bisulfita za 1 minuto.
6. Stekelca 30 sekund splakujte pod tekočo vodo iz pipe.
7. Stekelca splaknite z dvema cikloma deionizirane ali destilirane vode.
8. Kombinirajte vnaprej ogreto raztopino srebrovega nitrata in raztopino metenamin/boraks v vnaprej ogretem kozarcu Coplin, opranem s kislino.
9. Stekelca položite v raztopino metenamin/boraks-raztopino srebrovega nitrata in inkubirajte 20–45 minut pri 50–55 °C. Po 15–20 minutah primite z nekovinskimi kleščami, odstranite kontrolno stekelce in potopite v vnaprej ogreto deionizirano vodo za splakovanje, nato pa pod mikroskopom preverite celovitost srebrne usedline.
10. Stekelca splaknite s 6 cikli deionizirane ali destilirane vode.
11. Stekelca položite v raztopino zlatovega klorida za 5 minut.
12. Stekelca splaknite s 3 cikli deionizirane ali destilirane vode.
13. Stekelca položite v raztopino natrijevega tiosulfata za 2 minuti.
14. Pod tekočo vodo iz pipe stekelca temeljito izpirajte 2 minuti.
15. Stekelca položite v svetlo zeleno SF za 40 sekund.
16. Stekelca na kratko splaknite v deionizirani ali destilirani vodi.
17. Stekelca dehidrirajte v treh ciklih absolutnega alkohola.
18. Stekelca očistite v dveh ciklih ksilena in vdelajte v medij, ki se meša s ksilenom.

Preglednica 1. Primeri običajnega protokola barvanja s kompletom za barvanje GMS.

Koraki	Ukrep	Kemikalija	Čas (mm:ss)
1-3	Deparafinizacija	Ksilen	3:00
4-5	Hidracija	100-% alkohol	2:00
6	Hidracija	80-% ali 95-% alkohol	1:00
7	Hidracija	Deionizirana voda	1:00
8	Barvanje	Modificirana raztopina kromove kisline	5:00-10:00
9-10	Izpiranje	Vodovodna voda	0:30
11-12	Splakovanje	Deionizirana voda	0:10
13	Nevtralizacija	Raztopina natrijevega bisulfita	1:00
14	Splakovanje	Tekoča voda iz pipe	0:30
15-16	Splakovanje	Deionizirana voda	0:10
17	Barvanje/impregnacija	Raztopina metenamin/boraks-srebrov nitrat	20:00-45:00 pri 50–55 °C
18-23	Splakovanje	Deionizirana voda	0:10
24	Dehidracija	Raztopina zlatovega klorida	5:00
25-27	Splakovanje	Deionizirana voda	0:10
28	Barvanje	Raztopina natrijevega tiosulfata	2:00
29	Splakovanje	Tekoča voda iz pipe	2:00
30	Kontrastno barvanje	Svetlo zelena SF	0:40
31	Splakovanje	Deionizirana voda	0:30
32-34	Dehidracija	100-% alkohol	2:00
35-36	Čiščenje	Ksilen	2:00

Opomba: Pri uporabi nadomestka ksilena povečajte čas potopitve za približno 50 %.

Komplet za barvanje
Modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom

REF 38016SS12

Protokol za barvanje v mikrovalovni pečici

Bodite previdni pri uporabi mikrovalovne pečice za segrevanje katere koli raztopine ali reagenta. Mikrovalovna pečica mora biti pravilno prezračena, da se prepreči kopičenje hlapov v laboratoriju. Med postopkom obarvanja je treba uporabiti prosojne kozarce in pokrovčke Coplin za mikrovalovno pečico. Pokrovčke je treba ohlapno namestiti, da se prepreči razlitje. Lahko se uporabijo tudi pokrovčki s prezračevalnimi luknjicami. Vse mikrovalovne pečice je treba uporabljati v skladu z navodili proizvajalca.

1. **Rezine tkiva deparafinizirajte s ksilenom in rehidrirajte v deionizirano ali destilirano vodo z razvrščenimi alkoholi.**
2. **Stekelca položite v modificirano raztopino kromove kisline in 10 sekund ogrevajte v mikrovalovni pečici pri 800 vatih. Opomba: Pri ravnanju z modificirano raztopino kromove kisline bodite previdni.**
3. **Z obračanjem nežno zmešajte kozarec Coplin in pustite stati 1 minuto.**
4. **Stekelca splaknite s 6 cikli deionizirane ali destilirane vode.**
5. **Stekelca položite v raztopino natrijevega bisulfata za 1 minuto.**
6. **Stekelca splaknite s 6 cikli deionizirane ali destilirane vode.**
7. **Kombinirajte 20 ml raztopine srebrovega nitrata in 20 ml raztopine Methenamine/Borax Solution v plastični kozarec Coplin, očiščen s kislino.**
8. **Stekelca položite v raztopino in 40-50 sekund ogrevajte v mikrovalovni pečici pri 600 vatih.**
9. **Z obračanjem nežno zmešajte kozarec Coplin in pustite stati 2 minuti.**
10. **Raztopino 10 sekund ogrevajte v mikrovalovni pečici pri 600 vatih.**
11. **Nežno pretresite raztopino in z nekovinskimi kleščami odstranite kontrolno stekelce, ga potopite v predhodno ogreto deionizirano vodo, da ga sperete in mikroskopsko preverite celovitost impregnacije srebra. Po potrebi stekelca ponovno položite v toplo raztopino metenamin/boraks - srebrov nitrat in vrtinčite 10–30 sekund.**
12. **Če je potrebno, ponavljajte koraka 10 in 11, dokler ne opazite zadovoljive stopnje srebrne usedline.**
13. **Stekelca splaknite s 6 cikli deionizirane ali destilirane vode.**
14. **Stekelca položite v raztopino zlatovega klorida za 5 minut.**
15. **Stekelca splaknite s 3 cikli deionizirane ali destilirane vode.**
16. **Stekelca položite v raztopino natrijevega tiosulfata za 2 minuti.**
17. **Pod tekočo vodo iz pipe stekelca temeljito izpirajte 2 minuti.**
18. **Stekelca položite v svetlo zeleno SF za 40 sekund.**
19. **Stekelca na kratko splaknite v deionizirani ali destilirani vodi.**
20. **Stekelca dehidrirajte v 3 ciklih absolutnega alkohola.**
21. **Stekelca očistite v 2 ciklih ksilena in vdelajte v medij, ki se meša s ksilenom.**

Pripravljenost na uporabo

Ko izberete ustrezen protokol za barvanje in se pripravi shema kopeli, izlijte vse reagente v posodo za reagente. Položite posodo za reagent nazaj v ustrezno postajo.

Kontrola kakovosti

Stekelca za kontrolo kakovosti s tkivom, za katerega je znano, da vsebuje glivične elemente, fiksirano in vdelano na podoben način kot testni vzorci, morajo biti vključeni v vsak test za barvanje, da se zagotovi, da komplet za barvanje GMS deluje, kot je predvideno.

Pričakovani rezultati

- **Glivice – ostro začrtana črna barva**
- **Notranji deli micelija in hifa – barva taupe do stare vrtnice**
- **Mucin – barva taupe do temnosiva**
- **Ozadje – zelena**

Analitična zmogljivost

Kompleti za barvanje modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom Leica Biosystems se ne uporabljajo za zaznavanje točno določenega analita ali označevalca. Ti izdelki se uporabljajo za dokazovanje definiranih gliv in kužnih povzročiteljev, kot so *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii in Cryptococcus neoformans* v rezinah tkiva, fiksiranih s formalinom in vdelanih v parafin. Analitski parametri, kot so analitska občutljivost, analitska specifičnost, resničnost (pristranskost), natančnost (ponovljivost in reproduktibilnost), natančnost (ki izhaja iz resničnosti in natančnosti), meje zaznavanja in določanja, merilni razpon, linearnost, mejna vrednost, vključno z določitvijo ustreznih meril za zbiranje vzorcev in ravnanje z njimi ter nadzor znanih pomembnih endogenih in eksogenih motenj, navzkrižne reakcije, ne veljajo za delovanje tega sistema.

Klinična uporaba

Kompleti za barvanje modificirano Grocottovo obarvanje z metenaminskim srebrom Leica Biosystems niso namenjeni za uporabo kot sredstva za zaznavanje točno določene bolezni, patološkega procesa ali stanja. Indeksi klinične uporabe, kot so diagnostična občutljivost, diagnostična specifičnost, pozitivna napovedna vrednost, negativna napovedna vrednost, razmerje

verjetnosti, pa tudi pričakovane vrednosti v normalnih in prizadetih populacijah, ne veljajo za uporabo reagentov za modrenje Leica Biosystems v kliničnem okolju.

Odstranjevanje

Porabljene ali potekle količine kompleta za barvanje GMS zavrzite v skladu z organizacijskimi, lokalnimi, državnimi in zveznimi predpisi.

Kit de tinción especial
Tinción de plata-metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Nombre del producto

Kit de tinción especial de plata-metenamina de Grocott (GMS) modificada.

Uso previsto

Detección y medición

El kit de tinción de plata-metenamina de Grocott (GMS) modificada no detecta ni mide un analito o marcador.

La tinción de plata-metenamina de Grocott modificada, cuando se usa con los protocolos histológicos apropiados, puede utilizarse para la demostración de hongos y microorganismos infecciosos definidos, tales como *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii y Cryptococcus neoformans* en secciones de tejido fijadas en formalina e incrustadas en parafina.

Función del producto

Los resultados obtenidos mediante el uso del kit de tinción especial de GMS no proporcionan evidencia médica objetiva.

La coloración y el contraste que el kit de tinción especial de GMS de Leica Biosystems proporciona a las muestras histológicas permite la visualización de la anatomía microscópica. Esta visualización, al ser interpretada por un profesional capacitado, se utiliza en combinación con otra información, como el historial médico del paciente, la condición física y los resultados de otras pruebas médicas, para producir un diagnóstico médico.

Información específica provista

El kit de GMS de Leica Biosystems no está destinado a la detección, la definición o la diferenciación de un trastorno, afección o factor de riesgo específicos. La tinción demostrada con el uso de estos productos, al usarse de la manera prevista, brinda a los profesionales capacitados información que podría definir el estado fisiológico o patológico de la muestra de tejido.

Automatización

El kit de tinción especial de GMS no está automatizado, pero puede usarse en plataformas de tinción automatizadas. El uso en una plataforma automatizada debe validarse en el punto de uso.

Cualitativo/Cuantitativo

El kit de tinción especial de GMS de Leica Biosystems es de tinción cualitativa.

Tipo de muestra

El kit de tinción especial de GMS puede usarse con cualquier muestra humana o animal incrustada en parafina.

Población de prueba

El kit de GMS de Leica Biosystems está destinado para su uso con cualquier paciente que requiera la evaluación de una biopsia o tejido de resección para la valoración de una presunta patología o enfermedad.

Usuario deseado

El kit de tinción especial de GMS está diseñado para ser usado por personal de laboratorio calificado o designado por el laboratorio.

Diagnóstico *In Vitro*

El kit de GMS está destinado para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

Principio de prueba

El mecanismo de acción de la tinción de plata-metenamina de Grocott modificada se basa en la capacidad de los grupos de aldehídos de reducir la plata catiónica (Ag+) a plata metálica. Se utiliza ácido crómico para generar grupos de aldehídos mediante la oxidación de grupos de 1-2 glicoles dentro de componentes tisulares ricos en polisacáridos, por ejemplo, glucógeno, mucina, reticulina y paredes celulares fúngicas. Cuando la plata catiónica se agrega a la sección en forma de complejo de metenamina-iones de plata, los grupos de aldehídos reducen los iones de plata a plata metálica. Posteriormente, las secciones se tiñen con solución de cloruro de oro para producir oro metálico, que es más estable que la plata metálica y produce mayor contraste y claridad.

Debido al fuerte potencial oxidante de la solución de ácido crómico modificado, muchos de los grupos de aldehídos resultantes continúan el proceso de oxidación y se convierten en grupos de ácidos carboxílicos, que son incapaces de reducir la plata. Esta capacidad de la solución de ácido crómico modificado tiene la ventaja de reducir las reacciones de fondo del colágeno y las membranas basales, y produce una fuerte impregnación con plata solo en aquellas estructuras que poseen altos niveles de grupos de polisacáridos reactivos, por ejemplo, glucógeno, mucina y paredes celulares fúngicas.

Calibradores y controles

El kit de de GMS no requiere el uso de calibradores o controles.

Limitaciones de los reactivos

No se aplican limitaciones de reactivos a este producto.

Kit de tinción especial
Tinción de plata-metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Productos aplicables

Código del producto	Descripción del material
38016SS12	Kit de tinción especial de plata-metenamina de Grocott (GMS) modificada
38016SS12A	Solución de ácido crómico modificado, 500 ml
38016SS12B	Solución de bisulfito sódico, 500 ml
38016SS12C	Solución de nitrato de plata, 250 ml
38016SS12D	Solución de metenamina/bórax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solución de cloruro de oro, 500 ml
38016SS12F	Solución de tiosulfato de sodio, 500 ml
38016SS12G	Verde luz SF, 500 ml

Nota: (A). La solución de metenamina/bórax refrigerada (artículo n.º 38016SS12D, 250 ml) no se incluye en el kit de GMS. Este artículo debe solicitarse por separado y se enviará por separado.

Materiales no incluidos

El protocolo del kit de tinción especial de GMS requiere el uso de alcoholes graduados, xileno o sustitutos de xileno, agua desionizada o destilada. En cada corrida deben incluirse portaobjeto(s) de control positivo con tejido que se sepa que contiene elementos fúngicos (no incluidos en este kit).

Dispositivos requeridos

El kit de tinción especial de GMS de Leica Biosystems se puede utilizar en cualquier plataforma de tinción automatizada o con un método de tinción manual.

Almacenamiento y estabilidad

La solución de metenamina/bórax debe almacenarse a una temperatura de 2 a 8 °C (36 a 46 °F). Los demás componentes deben almacenarse a una temperatura ambiente de 15 a 30 °C (59 a 86 °F).
PRECAUCIÓN: No utilizar después de la fecha de caducidad.

Estabilidad en uso

Se debe utilizar a discreción del usuario al determinar la estabilidad en uso.

Esterilidad

Los componentes del kit de tinción especial de GMS no son productos estériles.

Advertencias y precauciones

Deben seguirse las precauciones normales ejercidas en el manejo de los reactivos de laboratorio. Desechar los residuos de conformidad con todas las regulaciones locales, estatales, provinciales o nacionales. Consultar la hoja de datos de seguridad del material y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Estado de material infeccioso

El kit de tinción especial de GMS no incluye ningún material infeccioso. Sin embargo, las muestras, antes y después de la fijación, así como todos los materiales expuestos a ellas, deben manejarse como si fueran capaces de transmitir infecciones y desecharse con las precauciones apropiadas, de conformidad con los lineamientos del lugar.

Instalaciones especiales

El kit de tinción especial de GMS debe usarse de conformidad con los lineamientos del lugar.

Manejo de muestras

Los fijadores sugeridos incluyen formalina amortiguada neutra al 10 %. Deshidratación, aclarado e infiltración e incrustación en parafina de rutina, y preparación de rutina de secciones de micrótomo. Una mala fijación, procesamiento, rehidratación y corte afectarán adversamente la calidad de la tinción. Después del procesamiento e incrustación de parafina, cortar las secciones de 4 a 6 micrones.

Preparación para el uso

Antes de la tinción, colocar 20 ml de la solución de metenamina/bórax y 20 ml de la solución de nitrato de plata en vasos de precipitados separados limpiados con ácido. Calentar las soluciones a 50–55 °C y, justo antes de la impregnación con plata, combinar las dos soluciones en un frasco Coplin lavado con ácido.

Notas:

- **Las soluciones se pueden calentar usando un baño de agua o en horno de laboratorio. Evitar calentar en exceso, dado que la descomposición de la metenamina se acelera a temperaturas mayores que 50 °C.**
- **Precalentar un segundo frasco Coplin con 40 ml de agua desionizada o destilada hasta 50–55 °C para usar como enjuague.**

Kit de tinción especial
Tinción de plata-metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Dirección para uso

Protocolo de tinción convencional

1. Desparafinar las secciones de tejido con xileno y rehidratar mediante alcoholes graduados y agua desionizada o destilada.
2. Colocar los portaobjetos en solución de ácido crómico modificado durante 5 a 10 minutos a temperatura ambiente.
   Nota: Tenga cuidado cuando manipule la solución de ácido crómico modificado.
3. Enjuagar los portaobjetos con dos cambios de agua del grifo.
4. Enjuagar los portaobjetos con dos cambios de agua desionizada o destilada.
5. Colocar los portaobjetos en solución de bisulfito sódico durante 1 minuto.
6. Enjuagar los portaobjetos con agua corriente del grifo durante 30 segundos.
7. Enjuagar los portaobjetos con dos cambios de agua desionizada o destilada.
8. Combinar la solución de nitrato de plata y la solución de metenamina/bórax precalentadas en un frasco Coplin limpiado con ácido y precalentado.
9. Colocar los portaobjetos en la solución de metenamina/bórax y nitrato de plata e incubar durante 20 a 45 minutos a 50–55 °C. Después de un lapso de 15 a 20 minutos, con la ayuda de pinzas no metálicas, extraer un portaobjetos de control, sumergirlo en agua desionizada precalentada para enjuagarlo, y observar microscópicamente que la plata se haya precipitado por completo.
10. Enjuagar los portaobjetos con 6 cambios de agua desionizada o destilada.
11. Colocar los portaobjetos en solución de cloruro de oro durante 5 minutos.
12. Enjuagar los portaobjetos con 3 cambios de agua desionizada o destilada.
13. Colocar los portaobjetos en solución de tiosulfato de sodio durante 2 minutos.
14. Enjuagar completamente los portaobjetos con agua corriente del grifo durante 2 minutos.
15. Colocar los portaobjetos en verde luz SF durante 40 segundos.
16. Enjuagar los portaobjetos brevemente con agua desionizada o destilada.
17. Deshidratar los portaobjetos con tres cambios de alcohol absoluto.
18. Aclarar los portaobjetos con dos cambios de xileno y montar en un medio que sea miscible con xileno.

Tabla 1. Ejemplo de protocolo convencional de tinción con el kit de tinción especial de GMS.

Pasos	Acción	Químico	Tiempo (min.: s)
1-3	Desparafinar	Xileno	3:00
4-5	Hidratación	Alcohol al 100 %	2:00
6	Hidratación	Alcohol al 80 % o 95 %	1:00
7	Hidratación	Agua desionizada	1:00
8	Tinción	Solución de ácido crómico modificado	5:00-10:00
9-10	Lavar	Agua del grifo	0:30
11-12	Enjuagar	Agua desionizada	0:10
13	Neutralizar	Solución de bisulfito sódico	1:00
14	Enjuagar	Agua corriente del grifo	0:30
15-16	Enjuagar	Agua desionizada	0:10
17	Teñir/impregnar	Solución de metenamina/bórax y nitrato de plata	20:00-45:00 a 50–55 °C
18-23	Enjuagar	Agua desionizada	0:10
24	Deshidratación	Solución de cloruro de oro	5:00
25-27	Enjuagar	Agua desionizada	0:10
28	Tinción	Solución de tiosulfato de sodio	2:00
29	Enjuagar	Agua corriente del grifo	2:00
30	Contratinción	Verde luz SF	0:40
31	Enjuagar	Agua desionizada	0:30
32-34	Deshidratación	Alcohol al 100 %	2:00
35-36	Aclarado	Xileno	2:00

Nota: Cuando se usa sustituto de xileno, incrementar los tiempos de inmersión en aproximadamente un 50%.

Kit de tinción especial
Tinción de plata-metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Protocolo de tinción en microondas

Tener cuidado al usar el microondas para calentar soluciones o reactivos. El microondas debe ventilarse adecuadamente para evitar la acumulación de gases en el laboratorio. Se deben usar tapas y frascos Coplin transparentes para microondas durante el proceso de tinción. Las tapas deben aplicarse sin apretar para evitar derrames. Las tapas con orificios de ventilación también pueden usarse. Todos los microondas deben usarse de conformidad con las instrucciones del fabricante.

1. **Desparafinar las secciones de tejido con xileno y rehidratar mediante alcoholes graduados y agua desionizada o destilada.**
2. **Colocar los portaobjetos en la solución de ácido crómico modificado y calentar en el microondas a 800 watts durante 10 segundos.**
   Nota: Tenga cuidado cuando manipule la solución de ácido crómico modificado.
3. **Mezclar suavemente agitando el frasco Coplin y dejar reposar durante 1 minuto.**
4. **Enjuagar los portaobjetos con 6 cambios de agua desionizada o destilada.**
5. **Colocar los portaobjetos en solución de bisulfito sódico durante 1 minuto.**
6. **Enjuagar los portaobjetos con 6 cambios de agua desionizada o destilada.**
7. **Combinar 20 ml de la solución de nitrato de plata y 20 ml de la solución de metenamina/bórax en un frasco Coplin de plástico limpiado con ácido.**
8. **Colocar los portaobjetos en la solución y calentar en el microondas a 600 watts durante 45 a 50 segundos.**
9. **Mezclar suavemente agitando el frasco Coplin y dejar reposar durante 2 minutos.**
10. **Calentar la solución en el microondas a 600 watts durante 10 segundos.**
11. **Agitar suavemente la solución y, con la ayuda de pinzas no metálicas, extraer un portaobjetos de control, sumergirlo en agua desionizada precalentada para enjuagarlo, y observar microscópicamente que la plata se haya impregnado por completo. De ser necesario, volver a colocar los portaobjetos en la solución calentada de metenamina/bórax y nitrato de plata y agitar durante 10 a 30 segundos.**
12. **De ser necesario, repetir los pasos 10 y 11 hasta observar un nivel satisfactorio de precipitación de la plata.**
13. **Enjuagar los portaobjetos con 6 cambios de agua desionizada o destilada.**
14. **Colocar los portaobjetos en solución de cloruro de oro durante 5 minutos.**
15. **Enjuagar los portaobjetos con 3 cambios de agua desionizada o destilada.**
16. **Colocar los portaobjetos en solución de tiosulfato de sodio durante 2 minutos.**
17. **Enjuagar completamente los portaobjetos con agua corriente del grifo durante 2 minutos.**
18. **Colocar los portaobjetos en verde luz SF durante 40 segundos.**
19. **Enjuagar los portaobjetos brevemente con agua desionizada o destilada.**
20. **Deshidratar los portaobjetos con 3 cambios de alcohol absoluto.**
21. **Aclarar los portaobjetos con 2 cambios de xileno y montar en un medio que sea miscible con xileno.**

Preparación para el uso

Una vez que se elige el protocolo de tinción apropiado y se crea el diseño del baño, verter todo el reactivo en el contenedor de reactivo. Vuelva a colocar el contenedor de reactivo en la estación respectiva.

Control de calidad

En cada evaluación de tinción se deben incluir portaobjetos de control de calidad con tejido que se sepa que contiene elementos fúngicos, fijado y procesado de manera similar a las muestras de análisis, para asegurar que el kit de tinción especial de GMS tenga el desempeño previsto.

Resultados esperados

- **Hongos: claramente delineados de color negro**
- **Partes internas de micelios e hifas: gris topo a rosa viejo**
- **Mucina: gris topo a gris oscuro**
- **Fondo: verde**

Desempeño analítico

Los kits de tinción de plata-metenamina de Grocott modificada de Leica Biosystems no se usan para detectar un analito o marcador específico. Estos productos se utilizan para la demostración de hongos y microorganismos infecciosos definidos, tales como *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii y Cryptococcus neoformans* en secciones de tejido fijadas en formalina e incrustadas en parafina. Los parámetros analíticos, como la sensibilidad analítica, la especificidad analítica, la veracidad (sesgo), la precisión (repetibilidad y reproducibilidad), la exactitud (resultante de la veracidad y precisión), los límites de detección y cuantificación, el rango de medición, la linealidad, el valor de corte, incluyendo la determinación de criterios apropiados para la recolección y el manejo de las muestras, y el control de interferencia endógena y exógena relevante conocida, así como las reacciones cruzadas, no se aplican al desempeño de este sistema.

Kit de tinción especial
Tinción de plata-metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Desempeño clínico

Los kits de tinción de plata-metenamina de Grocott modificada de Leica Biosystems no están destinados para su uso como medio para detectar una enfermedad o proceso o estado patológicos específicos. Los índices de desempeño clínico, como la sensibilidad de diagnóstico, la especificidad de diagnóstico, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo, la relación de probabilidad y los valores esperados en poblaciones normales y afectadas, no se aplican al uso de los agentes azulantes de Leica Biosystems en un entorno clínico.

Desecho

Los componentes utilizados o que han caducado del kit de tinción especial de GMS deben desecharse de acuerdo con los reglamentos organizacionales, locales, estatales y federales.

Kit de tinción especial
Tinción de plata de metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Nombre del producto

Kit de tinción especial con tinción de plata de metenamina de Grocott modificada (GMS).

Uso previsto

Detección/medición

El kit de tinción de plata de metenamina de Grocott modificada (GMS) no detecta ni mide un analito o marcador.

La tinción de plata de metenamina de Grocott modificada, cuando se utiliza con los protocolos histológicos adecuados, puede utilizarse para la demostración de hongos y agentes infecciosos definidos como *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii y Cryptococcus neoformans* en cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina.

Función del producto

Los resultados obtenidos mediante el kit de tinción especial GMS no ofrecen indicios médicos objetivos. La coloración y el contraste que proporciona el kit de tinción especial GMS de Leica Biosystems a las muestras histológicas permiten visualizar estructuras anatómicas microscópicas. Cuando un profesional con formación interpreta las imágenes, se estudian junto con el resto de información, como los antecedentes médicos del paciente, el estado físico y los resultados de otras pruebas médicas, para obtener un diagnóstico.

Información específica proporcionada

El kit GMS de Leica Biosystems no está indicado para la detección, definición o diferenciación de un trastorno, afección o factor de riesgo específico. La tinción demostrada con el uso de estos productos, conforme a sus indicaciones de uso previsto, ofrece a los profesionales cualificados información para definir el estado fisiológico o patológico de la muestra de tejido.

Automatización

El kit de tinción especial GMS no está automatizado, pero puede utilizarse en plataformas de tinción automatizadas. El uso en una plataforma automatizada deberá validarse en el lugar de uso.

Cualitativo/cuantitativo

El kit de tinción especial GMS de Leica Biosystems es una tinción cualitativa.

Tipo de muestra

El kit de tinción especial GMS puede utilizarse con cualquier muestra humana o animal incluida en parafina.

Población de ensayo

El kit GMS de Leica Biosystems está indicado para utilizarse con cualquier paciente que requiera una evaluación de biopsia o tejido de resección con el fin de determinar la existencia de una posible enfermedad o patología.

Usuario previsto

El kit de tinción especial GMS está indicado para que lo utilice personal cualificado de laboratorio o designado del laboratorio.

Diagnóstico *in vitro*

El kit GMS está indicado exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.

Principio de ensayo

El mecanismo de acción de la tinción de plata de metenamina de Grocott modificada se basa en la capacidad de los grupos aldehídos para reducir la plata catiónica (Ag +) a plata metálica. El ácido crómico se usa para generar grupos aldehídos mediante la oxidación de grupos 1-2 glicol dentro de componentes tisulares ricos en polisacáridos, p. ej., glucógeno, mucina, reticulina y paredes celulares de los hongos. Cuando se añade plata catiónica al corte en forma de un complejo de iones de plata-metenamina, los grupos aldehídos reducen los iones de plata a plata metálica. Posteriormente, los cortes se tonifican con una solución de cloruro de oro para producir oro metálico, el cual es más estable que la plata metálica y produce un contraste y una claridad superiores. Debido al fuerte potencial oxidante de la solución de ácido crómico modificada, muchos de los grupos aldehídos resultantes se oxidan adicionalmente a grupos de ácido carboxílico que no pueden reducir la plata. Esta capacidad de la solución de ácido crómico modificada tiene la ventaja de reducir las reacciones de fondo del colágeno y las membranas basales, y produce una fuerte impregnación con plata solo en aquellas estructuras que poseen niveles altos de grupos polisacáridos reactivos, p. ej., glucógeno, mucina y paredes celulares de los hongos.

Calibradores y controles

El kit GMS no requiere el uso de calibradores ni controles.

Limitaciones para los reactivos

En el caso de este producto no se aplica ninguna limitación para los reactivos.

Kit de tinción especial
Tinción de plata de metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Productos relevantes

Código del producto	Descripción del material
38016SS12	Kit de tinción de plata de metenamina de Grocott modificada (GMS)
38016SS12A	Solución de ácido crómico modificada, 500 ml
38016SS12B	Solución de bisulfito sódico, 500 ml
38016SS12C	Solución de nitrato de plata, 250 ml
38016SS12D	Solución de metenamina/bórax, 250 ml (A)
38016SS12E	Solución de cloruro de oro, 500 ml
38016SS12F	Solución de tiosulfato de sodio, 500 ml
38016SS12G	Verde claro SF, 500 ml

Nota: (A). La solución refrigerada de metenamina/bórax (n.° de artículo 38016SS12D, 250 ml) no se incluye en el kit GMS. El artículo debe pedirse aparte y se enviará por separado.

Materiales no incluidos

El protocolo del kit de tinción especial GMS requiere el uso de alcoholes con graduación, xileno o sustitutos del xileno, agua desionizada o destilada. Las preparaciones de control positivo con tejido que se sepa que contiene elementos fúngicos (no incluidos en este kit) deben incluirse en cada ciclo.

Dispositivos necesarios

El kit de tinción especial GMS de Leica Biosystems se pueden usar en plataformas de tinción automatizadas o con un método de tinción manual.

Almacenamiento y estabilidad

La solución de metenamina/bórax debe almacenarse a 2–8 °C (36–46 °F). Guarde los demás componentes a una temperatura ambiente de entre 15 y 30 °C (59–86 °F).
PRECAUCIÓN: No utilizar después de la fecha de caducidad.

Estabilidad en uso

Se deberá utilizar el criterio del usuario al determinar la estabilidad en uso.

Esterilidad

Los componentes del kit de tinción especial GMS no son productos estériles.

Advertencias/precauciones

Deberán tomarse las precauciones normales utilizadas al manipular reactivos de laboratorio. Elimine los residuos respetando todas las normativas locales, regionales, provinciales o nacionales. Consulte la hoja de datos de seguridad de materiales y el etiquetado del producto para conocer la información actualizada de riesgo, peligro o seguridad.

Estado de material infeccioso

El kit de tinción especial GMS no incluye ningún material infeccioso. Sin embargo, las muestras, antes y después de la fijación, y todos los materiales expuestos a ellas deberán manipularse como si pudieran transmitir infecciones y eliminarse con las precauciones adecuadas de acuerdo con las directrices del centro.

Instalaciones especiales

El kit de tinción especial GMS deberá utilizarse según las directrices del centro.

Manipulación de muestras

Los fijadores sugeridos incluyen formol amortiguado neutro al 10 %. Deshidratación, aclaramiento e infiltración e inclusión en parafina habituales, y preparación habitual de cortes de microtomos. Las deficiencias en la fijación, el procesamiento, la rehidratación y el corte perjudicarán la calidad de la tinción. Tras el procesamiento y la inclusión en parafina, corte las secciones a 4–6 micras.

Preparación para el uso

Antes de la tinción, añada 20 ml de la solución de metenamina/bórax y 20 ml de la solución de nitrato de plata en vasos de precipitado aparte lavados con ácido. Caliente las soluciones a 50–55 °C y, justo antes de la impregnación con 1 plata, combine las dos soluciones en un frasco Coplin lavado con ácido.

Notas:

- **Las soluciones pueden calentarse con un baño de agua o un horno de laboratorio. Evite el sobrecalentamiento, ya que la degradación de la metenamina se acelera a temperaturas superiores a 50 °C.**
- **Precaliente un segundo frasco Coplin con 40 ml de agua desionizada o destilada a 50–55 °C para usarla como enjuague.**

Kit de tinción especial
Tinción de plata de metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Instrucciones de uso

Protocolo de tinción convencional

1. Desparafine los cortes de tejido con xileno y rehidrátelos mediante alcoholes con graduación en agua desionizada o destilada.
2. Coloque las preparaciones en una solución de ácido crómico modificada durante 5-10 minutos a temperatura ambiente. Atención: Tenga cuidado al manipular la solución de ácido crómico modificada.
3. Aclare las preparaciones en dos cambios de agua del grifo.
4. Aclare las preparaciones en dos cambios de agua destilada o desionizada.
5. Coloque las preparaciones en una solución de bisulfito sódico durante 1 minuto.
6. Aclare las preparaciones en agua corriente del grifo durante 30 segundos.
7. Aclare las preparaciones en dos cambios de agua destilada o desionizada.
8. Combine la solución de nitrato de plata precalentada y la solución de metenamina/bórax en un frasco Coplin precalentado y lavado con ácido.
9. Coloque las preparaciones en la solución de metenamina/bórax-nitrato de plata e incube durante 20–45 minutos a 50–55 °C. Después de 15 a 20 minutos, con unas pinzas no metálicas retire una preparación de control, sumérjala en agua desionizada precalentada para aclararla y verifique microscópicamente la integridad de la deposición de plata.
10. Aclare las preparaciones en 6 cambios de agua destilada o desionizada.
11. Coloque las preparaciones en una solución de cloruro de oro durante 5 minutos.
12. Aclare las preparaciones en 3 cambios de agua destilada o desionizada.
13. Coloque las preparaciones en solución de tiosulfato de sodio durante 2 minutos.
14. Aclare completamente las preparaciones con agua corriente del grifo durante 2 minutos.
15. Coloque las preparaciones en Verde claro SF durante 40 segundos.
16. Aclare las preparaciones brevemente en agua destilada o desionizada.
17. Deshidrate las preparaciones en tres cambios de alcohol absoluto.
18. Aclare las preparaciones en dos cambios de xileno y póngalas en un medio miscible de xileno.

Tabla 1. Ejemplo del protocolo de tinción convencional del kit de tinción especial GMS.

Pasos	Acción	Sustancia química	Tiempo (mm:ss)
1-3	Desparafinación	Xileno	3:00
4-5	Hidratación	Alcohol al 100 %	2:00
6	Hidratación	Alcohol al 80 % o al 95 %	1:00
7	Hidratación	Agua desionizada	1:00
8	Tinción	Solución de ácido crómico modificada	5:00-10:00
9-10	Lavado	Agua corriente	0:30
11-12	Enjuague	Agua desionizada	0:10
13	Neutralización	Solución de bisulfito sódico	1:00
14	Enjuague	Agua corriente del grifo	0:30
15-16	Enjuague	Agua desionizada	0:10
17	Tinción/Impregnación	Solución de metenamina/bórax-nitrato de plata	20:00-45:00 a 50–55 °C
18-23	Enjuague	Agua desionizada	0:10
24	Deshidratación	Solución de cloruro de oro	5:00
25-27	Enjuague	Agua desionizada	0:10
28	Tinción	Solución de tiosulfato de sodio	2:00
29	Enjuague	Agua corriente del grifo	2:00
30	Contratinción	Verde claro SF	0:40
31	Enjuague	Agua desionizada	0:30
32-34	Deshidratación	Alcohol al 100 %	2:00
35-36	Aclaramiento	Xileno	2:00

Nota: Cuando utilice un sustituto de xileno, aumente los tiempos de inmersión en aproximadamente un 50 %.

Kit de tinción especial
Tinción de plata de metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Protocolo de tinción con microondas

Debe tenerse cuidado cuando se utiliza el microondas para calentar una solución o reactivo. El microondas debe estar debidamente ventilado para evitar la acumulación de humos en el laboratorio. Durante el proceso de tinción deben utilizarse frascos y tapas Coplin transparentes para microondas. Las tapas deben colocarse sin apretar para evitar derrames. También pueden utilizarse tapas con orificios de ventilación. Todos los microondas deben utilizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

1. **Desparafine los cortes de tejido con xileno y rehidrátelos mediante alcoholes con graduación en agua desionizada o destilada.**
2. **Coloque las preparaciones en la solución de ácido crómico modificada e introdúzcalas en el microondas a 800 vatios durante 10 segundos.**
   Atención: Tenga cuidado al manipular la solución de ácido crómico modificada.
3. **Mezcle suavemente dando vueltas al frasco Coplin y déjelo reposar durante 1 minuto.**
4. **Aclare las preparaciones en 6 cambios de agua destilada o desionizada.**
5. **Coloque las preparaciones en una solución de bisulfito sódico durante 1 minuto.**
6. **Aclare las preparaciones en 6 cambios de agua destilada o desionizada.**
7. **Combine 20 ml de la solución de nitrato de plata y 20 ml de la solución de metenamina/bórax en un frasco Coplin de plástico lavado con ácido.**
8. **Coloque las preparaciones en la solución e introdúzcalas en el microondas durante 45-50 segundos a 600 vatios.**
9. **Mezcle suavemente dando vueltas al frasco Coplin y déjelo reposar durante 2 minutos.**
10. **Introduzca la solución en el microondas durante 10 segundos a 600 vatios.**
11. **Agite suavemente la solución y, con unas pinzas no metálicas, retire una preparación de control, sumérjala en agua desionizada precalentada para aclarar y verifique microscópicamente la integridad de la impregnación con plata. Si es necesario, vuelva a poner las preparaciones en la solución tibia de nitrato de plata de metenamina/bórax y agítelas durante 10 a 30 segundos.**
12. **Si es necesario, repita los pasos 10 y 11 hasta que se observe un nivel satisfactorio de deposición de plata.**
13. **Aclare las preparaciones en 6 cambios de agua destilada o desionizada.**
14. **Coloque las preparaciones en una solución de cloruro de oro durante 5 minutos.**
15. **Aclare las preparaciones en 3 cambios de agua destilada o desionizada.**
16. **Coloque las preparaciones en solución de tiosulfato de sodio durante 2 minutos.**
17. **Aclare completamente las preparaciones con agua corriente del grifo durante 2 minutos.**
18. **Coloque las preparaciones en Verde claro SF durante 40 segundos.**
19. **Aclare las preparaciones brevemente en agua destilada o desionizada.**
20. **Deshidrate las preparaciones en 3 cambios de alcohol absoluto.**
21. **Aclare las preparaciones en 2 cambios de xileno y póngalas en un medio miscible de xileno.**

Preparación para uso

Una vez elegido el protocolo de tinción adecuado y creada la disposición del baño, vierta todo el reactivo en el vaso del reactivo. Coloque el vaso del reactivo de nuevo en la estación respectiva.

Control de calidad

Para garantizar que el kit de tinción especial GMS funciona según lo previsto, en cada ensayo de tinción deberá incluirse una preparación (o preparaciones) de control de calidad con tejido que se sepa que contiene elementos fúngicos, fijados y procesados de manera similar a las muestras analíticas.

Resultados previstos

- **Hongos – negro delineado nítidamente**
- **Partes internas del micelio e hifa: gris pardo a rosa viejo**
- **Mucina - gris pardo a gris oscuro**
- **Fondo – verde**

Rendimiento analítico

Los kits de tinción de plata de metenamina de Grocott modificada de Leica Biosystems no se utilizan para detectar un analito o marcador específicos. Estos productos se utilizan para la demostración de hongos definidos y agentes infecciosos como *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii y Cryptococcus neoformans* en cortes de tejido fijados en formol e incluidos en parafina. Parámetros analíticos como la sensibilidad analítica, la especificidad analítica, la imparcialidad (sesgo), la precisión (repetibilidad y reproducibilidad), la exactitud (resultante de la imparcialidad y precisión), los límites de detección y cuantificación, el intervalo de medición, la linealidad, los valores de corte, incluidos la determinación de los criterios adecuados para la recogida y la manipulación de muestras, y el control de interferencias conocidas pertinentes endógenas y exógenas, y las reacciones cruzadas no son aplicables al rendimiento de este sistema.

Kit de tinción especial
Tinción de plata de metenamina de Grocott modificada

REF 38016SS12

Rendimiento clínico

Los kits tinción de plata de metenamina de Grocott modificada de Leica Biosystems no están indicados para utilizarse como medio de detección de enfermedades o de procesos o estados patológicos específicos. Los índices de rendimiento clínico, como la sensibilidad diagnóstica, la especificidad diagnóstica, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo, el cociente de verosimilitudes, así como los valores esperados en poblaciones normales y afectadas, no se aplican al uso de los azulantes de Leica Biosystems en un entorno clínico.

Eliminación

Los componentes usados o caducados del kit de tinción especial GMS deberán desecharse de acuerdo con las normativas federales, nacionales, locales y de la organización.

Särskild färgningssats
Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning

REF 38016SS12

Produktnamn

Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning (GMS), särskild färgningssats.

Användningsområde

Detektion/mätning

Modifierad Grocott's metenamin silverfärgningssats (GMS) detekterar eller mäter inte en analyt eller markör.

När modifierad Grocott's metenamin silverfärgning används med lämpliga histologiska protokoll kan den användas för demonstration av definierad svamp och smittämnen som *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii och Cryptococcus neoformans* i paraffininbäddade vävnadssnitt, fixerade i formalin.

Produktfunktion

De resultat som erhållits genom användning av GMS särskild färgningssats ger inte objektiv medicinsk bevisning. Färgningen och kontrasten som Leica Biosystems GMS särskild färgningssats ger till histologiska prover, möjliggör visualisering av mikroskopisk anatomi. Denna visualisering, som tolkas av en yrkesutbildad användare, används tillsammans med annan information såsom patientens sjukdomshistorik, fysiska tillstånd och resultat från andra medicinska undersökningar för fastställande av en medicinsk diagnos.

Specifik information som ges

Leica Biosystems GMS-sats är inte avsedd för detektion, definition eller differentiering av en specifik sjukdom, ett tillstånd eller en riskfaktor. Färgningen, som påvisas med användning av dessa produkter ger, när de används såsom avsetts, yrkesmässiga användare information som kan definiera vävnadsprovets fysiologiska eller patologiska tillstånd.

Automatisering

GMS särskild färgningssats är inte automatiserad men kan användas på automatiserade färgningsplattformar. Användning på en automatiserad plattform ska valideras vid användningsstället.

Kvalitativt/kvantitativt

Leica Biosystems GMS särskild färgningssats är en kvalitativ färg.

Provtyp

GMS särskild färgningssats kan användas med alla paraffininbäddade prover från människor och djur.

Testpopulation

Leica Biosystems GMS-sats är avsedd för användning hos alla patienter som behöver utvärdering av biopsi- eller resektionsvävnad för utvärdering av misstänkt patologi eller sjukdom.

Avsedd användare

GMS särskild färgningssats är avsedd att användas av kvalificerad laboratoriepersonal och/eller utsedd person i laboratoriet.

***In vitro*-diagnostik**

GMS-sats är endast avsedd för *in vitro* -diagnostik.

Testprincip

Verkningsmekanismen i modifierad Grocott's metenamin silverfärgning är baserad på kapaciteten hos aldehydgrupper att reducera katjoniskt silver (Ag+) till metalliskt silver. Kromsyra används för att generera aldehydgrupper genom oxidering av 1-2 glykolgrupper i vävnadsdelar, rika på polysackarider, t.ex. glykogen, mucin, retikulin och svampcellväggar. När katjoniskt silver tillsätts till snittet i formen metenamin-silverjonkomplex, reducerar aldehydgrupperna silverjonerna till metalliskt silver. Snitten tonas sedan med guldkloridlösning för att producera metalliskt guld, vilket är mer stabilt än metalliskt silver och producerar överlägsen kontrast och klarhet.

På grund av den starka oxiderande potentialen hos modifierad kromsyralösning, oxideras många av de resulterande aldehydgrupperna ytterligare till karboxylsyragrupper som inte kan reducera silver. Kapaciteten hos modifierad kromsyralösning har fördelen att den minskar reaktioner av kollagen och basalmembran i bakgrunden. Den producerar en stark silverimpregnering endast i de strukturer som har höga nivåer av de reaktiva polysackaridgrupperna, t.ex. glykogen, mucin och svampcellväggar.

Kalibratorer och kontroller

GMS-sats kräver ingen användning av kalibratorer eller kontroller.

Reagensbegränsningar

Inga reagensbegränsningar är tillämpliga för denna produkt.

Särskild färgningssats
Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning

REF 38016SS12

Tillämpliga produkter

Produktkod	Materialbeskrivning
38016SS12	Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning (GMS), särskild färgningssats
38016SS12A	Modifierad kromsyralösning, 500 ml
38016SS12B	Natriumbisulfitlösning, 500 ml
38016SS12C	Silvernitratlösning, 250 ml
38016SS12D	Metenamin/borax-lösning, 250 ml (A)
38016SS12E	Guldkloridlösning, 500 ml
38016SS12F	Natriumtiosulfatlösning, 500 ml
38016SS12G	Ljust grön, SF, 500 ml

Obs! (A). Den kylda metenamin/borax-lösningen (artikelnr. 38016SS12D, 250 ml) ingår inte i GMS-satsen. Artikeln måste beställas separat och kommer att levereras separat.

Material som inte medföljer

GMS särskild färgningssats-protokoll kräver användning av klassificerade alkoholer, xylen eller xylenersättningar, avjoniserat eller destillerat vatten. Positiv(a) kontrollglas med vävnad känd för att innehålla svampämnen (ingår inte i denna sats), bör inkluderas i varje körning.

Utrustning som krävs

Leica Biosystems GMS särskild färgningssats kan användas på alla automatiserade färgningsplattformar eller med en manuell färgningsmetod.

Förvaring och stabilitet

Metenamin/borax-lösningen ska förvaras i 2–8 °C (36–46 °F). Förvara andra komponenter i rumstemperatur 15–30 °C (59–86 °F). FÖRSIKTIGHET: Använd ej efter utgångsdatumet.

Stabilitet under användning

Användarens eget gottfinnande bör användas när hen bestämmer stabilitet vid användning.

Sterilitet

Komponenterna i GMS särskild färgningssats är inte sterila produkter.

Varningar/försiktighetsåtgärder

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagens bör följas. Kassera avfall enligt alla lokala, statliga eller nationella bestämmelser. Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för eventuell uppdaterad information om risk, fara eller säkerhet.

Status för infektiöst material

GMS särskild färgningssats innehåller inget smittsamt material. Prover ska dock, både före och efter fixering, samt allt material som exponeras för dem, behandlas som smittförande och kasseras med lämpliga försiktighetsåtgärder enligt inrättningens riktlinjer.

Speciella lokaler

GMS särskild färgningssats bör användas enligt inrättningens riktlinjer.

Provhantering

Föreslagna fixeringsmedel inkluderar 10 % neutralbuffrat formalin. Rutinmässig dehydrering, rensning och paraffininfiltrering och inbäddning, och rutinmässig beredning av mikrotomsektioner. Dålig fixering, bearbetning, rehydrering och snittning kommer att påverka färgningskvaliteten negativt. Efter bearbetning och paraffininbäddning, ska snitt på 4–6 mikrometer skäras.

Användningsförberedelser

Före färgning ska du placera 20 ml metenamin/borax-lösning och 20 ml silvernitratlösning i separata bägare, rengjorda med syra. Värm lösningarna till 50–55 °C och strax innan silverimpregneringen kombinerar du de två lösningarna i en Coplin-burk, rengjord med syra.

Anmärkningar:

- **Lösningar kan värmas med ett vattenbad eller en laboratorieugn. Undvik att värma för mycket eftersom nedbrytning av metenamin accelererar vid temperaturer över 50 °C.**

Särskild färgningssats
Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning

REF 38016SS12

- Förvärm en andra Coplin-burk med 40 ml avjoniserat eller destillerat vatten till 50–55 °C som ska användas som en sköljning.

Bruksanvisning

Konventionellt färgningsprotokoll

1. Avparaffinera vävnadssnitt med xylen och rehydrera genom klassificerade alkoholer till avjoniserat eller destillerat vatten.
2. Placera snitt i modifierad kromsyralösning i 5 –10 minuter i rumstemperatur.
   Observera: Var försiktig när du hanterar modifierad kromsyralösning.
3. Skölj snitten i två byten av kranvatten.
4. Skölj snitten i två byten av avjoniserat eller destillerat vatten.
5. Placera snitten i natriumbisulfitlösning i 1 minut.
6. Skölj snitten under rinnande kranvatten i 30 sekunder.
7. Skölj snitten i två byten av avjoniserat eller destillerat vatten.
8. Kombinera den förvärmda silvernitratlösningen och metenamin/borax-lösningen i en förvärmd Coplin-burk, rengjord med syra.
9. Placera snitten i metenamin/borax-silvernitratlösningen och inkubera i 20–45 minuter i 50–55 °C. Efter 15–20 minuter, ta bort ett kontrollglas med en icke metallisk pincett, doppa i det förvärmda avjoniserade vattnet för att skölja och kontrollera silverdeponeringens fullständighet i mikroskop.
10. Skölj snitten i 6 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.
11. Placera snitten i guldkloridlösning i 5 minuter.
12. Skölj snitten i 3 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.
13. Placera snitten i natriumtiosulfatlösning i 2 minuter.
14. Skölj snitten noggrant under rinnande kranvatten i 2 minuter.
15. Placera snitten i ljust grön SF i 40 sekunder.
16. Skölj snitten snabbt i avjoniserat eller destillerat vatten.
17. Dehydrera snitten i tre byten av ren alkohol.
18. Rensa snitten i två byten av xylen och montera i ett monteringsmaterial som är blandbart med xylen.

Tabell 1. Exempel på konventionellt färgningsprotokoll för GMS särskild färgningssats.

Steg	Åtgärd	Kemikalie	Tid (mm:ss)
1-3	Avparaffinera	Xylen	3:00
4-5	Hydrering	100 % alkohol	2:00
6	Hydrering	80 % eller 95 % alkohol	1:00
7	Hydrering	Avjoniserat vatten	1:00
8	Färgning	Modifierad kromsyralösning	5:00-10:00
9-10	Tvätta	Kranvatten	0:30
11-12	Skölja	Avjoniserat vatten	0:10
13	Neutralisera	Natriumbisulfitlösning	1:00
14	Skölja	Rinnande kranvatten	0:30
15-16	Skölja	Avjoniserat vatten	0:10
17	Färga/impregnera	Metenamin/borax-silvernitratlösning	20:00-45:00 i 50–55 °C
18-23	Skölja	Avjoniserat vatten	0:10
24	Dehydrering	Guldkloridlösning	5:00
25-27	Skölja	Avjoniserat vatten	0:10
28	Färgning	Natriumtiosulfatlösning	2:00
29	Skölja	Rinnande kranvatten	2:00
30	Motfärgning	Ljust grön SF	0:40
31	Skölja	Avjoniserat vatten	0:30
32-34	Dehydrering	100 % alkohol	2:00

Särskild färgningssats
Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning

REF 38016SS12

35-36	Rensa	Xylen	2:00

Obs! Öka nedsänkningstiderna med ca 50 % vid användning av xylensubstitut.

Färgningsprotokoll för mikrovågsugn

Var försiktig när du använder mikrovågsugnen för att värma någon lösning eller reagens. Mikrovågsugnen måste vara korrekt ventilerad för att förhindra ansamling av ångor i laboratoriet. Mikrovågstransparenta coplin-burkar och lock bör användas under färgningsprocessen. Locken ska appliceras löst för att förhindra spill. Lock med ventilationshål kan också användas. Alla mikrovågsugnar måste användas i enlighet med tillverkarens anvisningar.

1. **Avparaffinera vävnadssnitt med xylen och rehydrera genom klassificerade alkoholer till avjoniserat eller destillerat vatten.**
2. **Placera snitten i modifierad kromsyralösning och värm i mikrovågsugn vid 800 watt i 10 sekunder.**
   Observera: Var försiktig när du hanterar modifierad kromsyralösning.
3. **Blanda försiktigt genom att virvla Coplin-burken och låt stå i 1 minut.**
4. **Skölj snitten i 6 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.**
5. **Placera snitten i natriumbisulfitlösning i 1 minut.**
6. **Skölj snitten i 6 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.**
7. **Kombinera 20 ml silvernitratlösning och 20 ml metenamin/boraxlösning i en Coplin-burk, rengjord med syra.**
8. **Placera snitten i lösningen och värm i mikrovågsugn vid 600 watt i 45–50 sekunder.**
9. **Blanda försiktigt genom att virvla Coplin-burken och låt stå i 2 minuter.**
10. **Värm lösningen i mikrovågsugnen vid 600 watt i 10 sekunder.**
11. **Blanda försiktigt lösningen och ta bort ett kontrollglas med en icke metallisk pincett, doppa i förvärmt avjoniserat vatten för att skölja och kontrollera silverimpregneringens fullständighet i mikroskop. Om det behövs, byt ut snitten i den varma metenamin/borax-silvernitratlösningen och virvla i 10–30 sekunder.**
12. **Om det behövs, upprepa stegen 10 och 11 tills en tillfredställande nivå av silverdeponering kan ses.**
13. **Skölj snitten i 6 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.**
14. **Placera snitten i guldkloridlösning i 5 minuter.**
15. **Skölj snitten i 3 byten av avjoniserat eller destillerat vatten.**
16. **Placera snitten i natriumtiosulfatlösning i 2 minuter.**
17. **Skölj snitten noggrant under rinnande kranvatten i 2 minuter.**
18. **Placera snitten i ljust grön SF i 40 sekunder.**
19. **Skölj snitten snabbt i avjoniserat eller destillerat vatten.**
20. **Dehydrera snitten i 3 byten av ren alkohol.**
21. **Rensa snitten i 2 byten av xylen och montera i ett monteringsmaterial som är blandbart med xylen.**

Beredskap för användning

När lämpligt färgningsprotokoll har valts och badlayout har skapats, häll all reagens i reagenskärlet. Sätt tillbaka reagenskärlet i respektive station.

Kvalitetskontroll

Ett kvalitetskontrollglas med vävnad, känd för att innehålla svampämnen, fixerad och bearbetad på ett liknande sätt som testproven, ska inkluderas i varje färgningsanalys för att säkerställa att GMS särskild färgningssats fungerar som avsett.

Förväntade resultat

- **Svamp – skarp avgränsad svart**
- **Inre delar av mycelia och hyfer – brungrå till gammalrosa**
- **Mucin – brungrå till mörkgrå**
- **Bakgrund – grön**

Analytisk prestanda

Leica Biosystems modifierade Grocott's metenamin silverfärgningssatser används inte för att detektera en specifik analyt eller markör. Dessa produkter används för demonstration av definierad svamp och smittämnen som *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii och Cryptococcus neoformans* paraffininbäddade vävnadssnitt, fixerade i formalin. Analytiska parametrar, t.ex. analytisk känslighet, analytisk specificitet, riktighet (påverkan), precision (repeterbarhet och reproducerbarhet), exakthet (till följd av riktighet och precision), gränser för detektion och kvantifiering, mätintervall, linjäritet, separation, inklusive bestämning av lämpliga kriterier för insamling av prover samt hantering och kontroll av kända endogena och exogena störningar samt korsreaktioner är inte tillämpliga för prestandan hos detta system.

Särskild färgningssats
Modifierad Grocott's metenamin silverfärgning

REF 38016SS12

Klinisk prestanda

Leica Biosystems modifierade Grocott's metenamin silverfärgningssatser är inte avsedda för användning som hjälpmedel för upptäckt av en specifik sjukdom eller patologisk process eller ett tillstånd. Kliniska prestandaindex, såsom diagnostisk känslighet, diagnostisk specificitet, positivt prediktivt värde, negativt prediktivt värde, sannolikhetskvot samt förväntade värden i normala och berörda populationer, gäller inte användning av Leica Biosystems blåningsmedel i en klinisk miljö.

Kassering

Använda eller utgångna komponenter i GMS särskild färgningssats ska kasseras enligt de regler och lagar som gäller inom organisationen samt enligt lokala, regionala och statliga myndigheter.

ชุดย้อมสีพิเศษ
สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ Grocott สูตรปรับปรุง
(Modified Grocott's Methenamine Silver Stain)

REF 38016SS12

ชื่อผลิตภัณฑ์

ชุดย้อมสีพิเศษ สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ **Grocott (GMS)** สูตรปรับปรุง

การใช้งานที่ออกแบบมา

การตรวจจับ/การวัดค่า

ชุดสารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ **Grocott (GMS)** สูตรปรับปรุงไม่ได้ตรวจหาหรือวัดสิ่งที่วิเคราะห์หรือตัวบ่งชี้
เมื่อใช้ร่วมกับระเบียบวิธีทางจุลกายวิภาคที่เหมาะสมอาจใช้สารย้อมสี **Grocott's Methenamine Silver**
สูตรปรับปรุงสำหรับการแสดงให้เห็นเชื้อราที่กำหนดและเชื้อโรคต่าง ๆ เช่น ***Aspergillus sp., Pneumocystis carinii*** *และ* ***Cryptococcus neoformans*** ในชิ้นเนื้อเยื่อที่ตรึงสภาพด้วยฟอร์มาลินและฝังในพาราฟิน

การทำงานของผลิตภัณฑ์

ผลที่ได้จากการใช้ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ไม่ได้ให้หลักฐานทางการแพทย์ที่เป็นรูปธรรม การย้อมสีและความแตกต่างที่ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS Leica Biosystems** ให้แก่สิ่งส่งตรวจทางจุลกายวิภาคทำให้สามารถมองเห็นกายวิภาคจุลทรรศน์ เมื่อผู้เชี่ยวชาญที่ผ่านการฝึกอบรมแปลผลการสร้างภาพนี้จะถูกนำมาใช้ร่วมกับข้อมูลอื่น ๆ เช่น ประวัติทางการแพทย์ของผู้ป่วย สภาพทางกายภาพ ตลอดจนผลลัพธ์จากการทดสอบทางการแพทย์อื่น ๆ เพื่อนำมาวินิจฉัยทางการแพทย์

ข้อมูลเจาะจงที่ให้

ชุด **GMS Leica Biosystems** ไม่มีจุดประสงค์เพื่อการตรวจหา การระบุหรือการแบ่งแยกความแตกต่างของความผิดปกติ ภาวะหรือปัจจัยเสี่ยงที่จำเพาะ การย้อมสีที่สาธิตด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้
เมื่อนำมาใช้ตามความมุ่งหมายจะให้ข้อมูลแก่ผู้เชี่ยวชาญที่ผ่านการฝึกอบรมซึ่งอาจระบุสถานะทางสรีรวิทยาหรือพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อส่งตรวจได้

การทำงานอัตโนมัติ

ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ไม่ได้ทำงานโดยอัตโนมัติ แต่สามารถใช้บนแพลตฟอร์มการย้อมสีแบบอัตโนมัติได้
ควรตรวจสอบความถูกต้องของการใช้บนแพลตฟอร์มแบบอัตโนมัติ ณ จุดที่ใช้งาน

เชิงคุณภาพ/เชิงปริมาณ

ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS Leica Biosystems** เป็นสารย้อมสีเชิงคุณภาพ

ประเภทสิ่งส่งตรวจ

สามารถใช้ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** กับสิ่งส่งตรวจของมนุษย์หรือสัตว์ใด ๆ ที่ฝังอยู่ในพาราฟินได้

ประชากรทดสอบ

ชุด **GMS Leica Biosystems**
มีจุดประสงค์สำหรับใช้ร่วมกับการประเมินชิ้นเนื้อหรือเนื้อเยื่อที่ตัดออกตรวจที่ผู้ป่วยต้องการเพื่อการประเมินพยาธิสภาพหรือโรคที่สงสัย

ผู้ใช้ที่มุ่งหมาย

ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** มีวัตถุประสงค์ให้บุคลากรในห้องปฏิบัติการที่มีคุณสมบัติเหมาะสมและ/หรือผู้ได้รับมอบหมายของห้องปฏิบัติการใช้งาน

การวินิจฉัย*ภายนอกร่างกาย*

ชุด **GMS** มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ในการวินิจฉัย*ภายนอกร่างกาย*เท่านั้น

หลักการทดสอบ

กลไกการออกฤทธิ์ของสารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ **Grocott** สูตรปรับปรุงอยู่บนพื้นฐานความสามารถของหมู่อัลดีไฮด์ในการรีดิวซ์เงินที่มีประจุบวก **(Ag+)** ให้เป็นเงินที่เป็นโลหะ กรดโครมิคถูกนำมาใช้ในการสร้างหมู่อัลดีไฮด์โดยปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของหมู่ไกลคอล **1-2**
หมู่ภายในองค์ประกอบของเนื้อเยื่อที่มีโพลีแซคคาไรด์มาก เช่น ไกลโคเจน มิวซิน เรติคูลิน และผนังเซลล์ของเชื้อรา
เมื่อเติมเงินที่มีประจุบวกไปยังชิ้นเนื้อในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนของเมทีนามีนและซิลเวอร์ไอออน
หมู่อัลดีไฮด์รีดิวซ์ซิลเวอร์ไอออนเป็นเงินที่เป็นโลหะ ต่อมาชิ้นเนื้อต่าง ๆ ถูกปรับสีด้วยสารละลายโกลด์คลอไรด์เพื่อทำให้เกิดทองที่เป็นโลหะ
ซึ่งมีความเสถียรมากกว่าเงินที่เป็นโลหะ และทำให้เกิดความแตกต่างและความชัดที่เหนือกว่า
เนื่องจากความสามารถในการออกซิไดซ์ที่แรงของสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง
ดังนั้นหมู่อัลดีไฮด์ที่ได้จึงถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็นหมู่กรดคาร์บอกซิลิคซึ่งไม่สามารถรีดิวซ์เงินได้
ความสามารถของสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุงมีข้อดีในการรีดิวซ์ปฏิกิริยาในพื้นหลังของคอลลาเจนและเยื่อรองรับฐาน **(basement membrane)** ตลอดจนทำให้เกิดการซึมแทรก **(impregnation)** ที่แรงด้วยเงินเฉพาะในโครงสร้างที่มีหมู่โพลีแซคคาไรด์ที่ไวต่อปฏิกิริยาในระดับสูง เช่น ไกลโคเจน มิวซิน และผนังเซลล์ของเชื้อรา

สารปรับเทียบมาตรฐานและสารควบคุม

ชุด **GMS** ไม่ต้องมีการใช้สารปรับเทียบมาตรฐานหรือสารควบคุมใด ๆ

ข้อจำกัดของตัวทำปฏิกิริยา

ผลิตภัณฑ์นี้ไม่มีข้อจำกัดของตัวทำปฏิกิริยา

ชุดย้อมสีพิเศษ
สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ Grocott สูตรปรับปรุง
(Modified Grocott's Methenamine Silver Stain)

REF 38016SS12

ผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

รหัสผลิตภัณฑ์	คำอธิบายวัสดุ
38016SS12	ชุดย้อมสีพิเศษ สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ **Grocott (GMS)** สูตรปรับปรุง
38016SS12A	สารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง, **500** มล.
38016SS12B	สารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์, **500** มล.
38016SS12C	สารละลายซิลเวอร์ไนเตรต, **250** มล.
38016SS12D	สารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์, **250** มล. **(A)**
38016SS12E	สารละลายโกลด์คลอไรด์, **500** มล.
38016SS12F	สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต, **500** มล.
38016SS12G	**SF** สีเขียวอ่อน, **500** มล.

หมายเหตุ: (A). สารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์แช่เย็น (รายการที่ 38016SS12D, 250 มล.) ไม่ได้รวมอยู่ในชุด GMS จะต้องสั่งของแยกกันและจะจัดส่งแยกกัน

วัสดุที่ไม่ได้ให้มาด้วย

ระเบียบวิธีของชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** จำเป็นต้องใช้แอลกอฮอล์ที่มีการเพิ่มลดความเข้มข้นตามลำดับของขั้นตอน **(graded alcohols)** ไซลีน หรือสารทดแทนไซลีน น้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่น ในการตรวจแต่ละครั้งควรมีสไลด์ควบคุมผลบวกที่มีเนื้อเยื่อที่ทราบว่ามีส่วนประกอบของเชื้อรา **(ซึ่งไม่ได้รวมไว้ในชุดนี้)**

อุปกรณ์ที่ต้องการ

สามารถใช้ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS Leica Biosystems** ในแพลตฟอร์มการย้อมสีอัตโนมัติใด ๆ หรือใช้ร่วมกับวิธีการย้อมสีด้วยตนเอง

การจัดเก็บและความเสถียร

ควรเก็บสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์ไว้ที่อุณหภูมิ **2–8 °C (36–46 °F)** เก็บส่วนประกอบอื่น ๆ ไว้ที่อุณหภูมิห้องที่ **15-30 °C (59–86 °F)**
ข้อควรระวัง: ห้ามใช้หลังวันหมดอายุ

ความเสถียรในการใช้งาน

เมื่อพิจารณาความเสถียรในระหว่างการใช้งาน **(in-use stability)** ควรใช้ดุลยพินิจของผู้ใช้

ความปลอดเชื้อ

องค์ประกอบของชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ

คำเตือน/ข้อควรระวัง

ควรปฏิบัติตามข้อควรระวังตามปกติที่ใช้ในการดำเนินการกับตัวทำปฏิกิริยาทางห้องปฏิบัติการ กำจัดของเสียโดยปฏิบัติตามตามระเบียบข้อบังคับของท้องถิ่น รัฐ จังหวัดหรือประเทศ โปรดดูเอกสารข้อมูลความปลอดภัยและฉลากผลิตภัณฑ์สำหรับข้อมูลที่ปรับปรุงในเรื่องความเสี่ยง อันตรายหรือความปลอดภัยใด ๆ

สถานะวัสดุติดเชื้อ

ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ไม่มีวัสดุติดเชื้อใด ๆ อย่างไรก็ตาม ก่อนและหลังการตรึงสภาพสิ่งส่งตรวจ
ควรหยิบจับสิ่งส่งตรวจและวัสดุทั้งหมดที่สัมผัสให้เหมือนกับสามารถแพร่เชื้อได้ และกำจัดด้วยความระมัดระวังที่เหมาะสมตามแนวทางของสถานที่

สถานที่พิเศษ

ควรใช้ชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ตามแนวทางปฏิบัติของสถานที่

การหยิบจับสิ่งส่งตรวจ

สารตรึงสภาพที่แนะนำรวมถึง ฟอร์มาลินบัฟเฟอร์ที่เป็นกลางซึ่งมีความเข้มข้น **10%** การดึงน้ำออก การทำให้ใส การใส่และฝังพาราฟิน และการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยไมโครโทมตามปกติ การตรึงสภาพ การดำเนินการ การคืนน้ำเข้ามาในเนื้อเยื่อ และการตัดชิ้นเนื้อที่ไม่เหมาะสมจะส่งผลไม่ดีต่อคุณภาพของการย้อมสี หลังจากเตรียมชิ้นเนื้อและฝังในพาราฟิน ให้ตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา **4-6** ไมครอน

การเตรียมเพื่อใช้งาน

ก่อนการย้อมสี ให้ใส่สารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์ **20** มล. และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตลงในบีกเกอร์ที่ทำความสะอาดด้วยกรดที่แยกกันต่างหาก ให้ความร้อนแก่สารละลายไปที่อุณหภูมิ **50–55 °C** และก่อนที่จะทำการซึมแทรกด้วยเงินในทันที ให้รวมสารละลายทั้งสองในโถ **Coplin** ที่ล้างด้วยกรด

หมายเหตุ:

- อาจให้ความร้อนแก่สารละลายโดยใช้อ่างน้ำหรือตู้อบทางห้องปฏิบัติการ หลีกเลี่ยงการให้ความร้อนมากเกินไป เนื่องจากเมทีนามีนถูกเร่งให้สลายตัวที่อุณหภูมิสูงกว่า **50 °C**
- ให้ความร้อนล่วงหน้าแก่โถ **Coplin** ที่สองที่มีน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่น **40** มล. ไปที่อุณหภูมิ **50–55 °C** ซึ่งจะใช้เป็นสารสำหรับการล้าง

ชุดย้อมสีพิเศษ
สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ Grocott สูตรปรับปรุง
(Modified Grocott's Methenamine Silver Stain)

REF 38016SS12

วิธีการใช้

ระเบียบวิธีการย้อมสีทั่วไป

1. ขจัดพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อด้วยไซลีน และทำให้น้ำเข้าสู่ชิ้นเนื้ออีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์ที่มีการเพิ่มลดความเข้มข้นตามลำดับของขั้นตอน จากนั้นจึงใช้น้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่น
2. นำสไลด์ใส่ในสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุงเป็นเวลา **5-10** นาทีที่อุณหภูมิห้อง
   โปรดทราบว่า: ใช้ความระมัดระวังในการดำเนินการกับสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง
3. ล้างสไลด์ในน้ำประปาที่เปลี่ยนใหม่ **2** ครั้ง
4. ล้างสไลด์ในน้ำที่ปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **2** ครั้ง
5. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์เป็นเวลา **1** นาที
6. ล้างสไลด์ในน้ำประปาแบบไหลผ่านเป็นเวลา **30** วินาที
7. ล้างสไลด์ในน้ำที่ปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **2** ครั้ง
8. รวมสารละลายซิลเวอร์ในเตรตและสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์ที่อุ่นไว้ล่วงหน้าลงในโถ **Coplin** ที่ทำความสะอาดด้วยกรดและอุ่นไว้ล่วงหน้าแล้ว
9. นำสไลด์ใส่ในสารละลายที่ผสมกันระหว่างสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต แล้วอุ่นเป็นเวลา **20-45** นาที ที่อุณหภูมิ **50–55 °C** หลังจาก **15-20** นาที ให้ใช้ปากคีบที่ไม่ใช่โลหะนำสไลด์ควบคุมออกมา แล้วจุ่มลงในน้ำปราศจากไอออนที่อุ่นไว้ล่วงหน้าเพื่อล้าง และตรวจสอบความสมบูรณ์ของการสะสมของเงินด้วยกล้องจุลทรรศน์
10. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **6** ครั้ง
11. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโกลด์คลอไรด์เป็นเวลา **5** นาที
12. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **3** ครั้ง
13. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นเวลา **2** นาที
14. ล้างสไลด์ให้ทั่วในน้ำประปาแบบไหลผ่านเป็นเวลา **2** นาที
15. นำสไลด์ใส่ใน **SF** สีเขียวอ่อนเป็นเวลา **40** วินาที
16. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นสักครู่
17. ขจัดน้ำออกจากสไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ **(absolute alcohol)** โดยเปลี่ยน **3** ครั้ง
18. ทำให้เนื้อเยื่อใสในไซลีนโดยเปลี่ยน **2** ครั้ง และติดในตัวกลางในการติดที่เข้ากันได้กับไซลีน

ตารางที่ **1** ตัวอย่างระเบียบวิธีย้อมสีด้วยชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ทั่วไป

ขั้นตอน	การดำเนินการ	สารเคมี	เวลา (นาที:วินาที)
1-3	ขจัดพาราฟินออก	ไซลีน	**3:00**
4-5	การทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อ	แอลกอฮอล์ **100%**	**2:00**
6	การทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อ	แอลกอฮอล์ **80%** หรือ **95%**	**1:00**
7	การทำให้น้ำเข้าสู่เซลล์และเนื้อเยื่อ	น้ำปราศจากไอออน	**1:00**
8	ย้อม	สารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง	**5:00-10:00**
9-10	ล้าง	น้ำก๊อก	**0:30**
11-12	ล้าง	น้ำปราศจากไอออน	**0:10**
13	ทำให้เป็นกลาง	สารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์	**1:00**
14	ล้าง	น้ำประปาแบบไหลผ่าน	**0:30**
15-16	ล้าง	น้ำปราศจากไอออน	**0:10**
17	ย้อม/ซึมแทรก	สารละลายผสมระหว่างสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต	**20:00-45:00** ที่ **50–55 °C**
18-23	ล้าง	น้ำปราศจากไอออน	**0:10**
24	การขจัดน้ำ	สารละลายโกลด์คลอไรด์	**5:00**
25-27	ล้าง	น้ำปราศจากไอออน	**0:10**
28	ย้อม	สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต	**2:00**
29	ล้าง	น้ำประปาแบบไหลผ่าน	**2:00**
30	ย้อมทับ	**SF** สีเขียวอ่อน	**0:40**
31	ล้าง	น้ำปราศจากไอออน	**0:30**
32-34	การขจัดน้ำ	แอลกอฮอล์ **100%**	**2:00**
35-36	การทำให้ใส	ไซลีน	**2:00**

หมายเหตุ: เมื่อใช้สารทดแทนไซลีน ให้เพิ่มเวลาในการจุ่มประมาณ **50%**

ชุดย้อมสีพิเศษ
สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ Grocott สูตรปรับปรุง
(Modified Grocott's Methenamine Silver Stain)

REF 38016SS12

ระเบียบวิธีการย้อมสีไมโครเวฟ

ใช้ความระมัดระวังเมื่อใช้ไมโครเวฟในการให้ความร้อนสารละลายหรือตัวทำปฏิกิริยาใด ๆ
จะต้องมีการระบายอากาศไมโครเวฟอย่างถูกต้องเพื่อป้องกันการสะสมของควันในห้องปฏิบัติการ ควรใช้โถ **Coplin**
และฝาแบบใสสำหรับไมโครเวฟในระหว่างกระบวนการย้อม ควรใช้ฝาอย่างหลวม ๆ เพื่อป้องกันการหก นอกจากนี้ยังอาจใช้ฝาที่มีรูระบายได้
ควรใช้ไมโครเวฟทั้งหมดตามคำแนะนำของผู้ผลิต

1. ขจัดพาราฟินออกจากชิ้นเนื้อด้วยไซลีน และทำให้น้ำเข้าสู่ชิ้นเนื้ออีกครั้งด้วยแอลกอฮอล์ที่มีการเพิ่มลดความเข้มข้นตามลำดับของขั้นตอน
   จากนั้นจึงใช้น้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่น
2. นำสไลด์ใส่ในสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง และนำไปใส่ในไมโครเวฟที่ **800** วัตต์ เป็นเวลา **10** วินาที
   โปรดทราบว่า: ใช้ความระมัดระวังในการดำเนินการกับสารละลายกรดโครมิคสูตรปรับปรุง
3. ค่อย ๆ ผสมโดยการแกว่งโถ **Coplin** เป็นวงกลม และปล่อยตั้งไว้เป็นเวลา **1** นาที
4. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **6** ครั้ง
5. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์เป็นเวลา **1** นาที
6. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **6** ครั้ง
7. รวมสารละลายซิลเวอร์ไนเตรต **20** มล. และสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์ **20** มล. ลงในโถ **Coplin** พลาสติกที่ทำความสะอาดด้วยกรดแล้ว
8. นำสไลด์ใส่ในสารละลาย และนำไปใส่ในไมโครเวฟที่ **600** วัตต์ เป็นเวลา **45-50** วินาที
9. ค่อย ๆ ผสมโดยการแกว่งโถ **Coplin** เป็นวงกลม และปล่อยตั้งไว้เป็นเวลา **2** นาที
10. นำสารละลายใส่ในไมโครเวฟที่ **600** วัตต์ เป็นเวลา **10** วินาที
11. ปั่นสารละลายเบา ๆ และใช้ปากคีบที่ไม่ใช่โลหะนำสไลด์ควบคุมออกมา แล้วจุ่มลงในน้ำปราศจากไอออนที่อุ่นไว้ล่วงหน้าเพื่อล้าง
    และตรวจสอบความสมบูรณ์ของการซึมแทรกของเงินด้วยกล้องจุลทรรศน์
    หากจำเป็นให้แทนที่สไลด์ใส่ในสารละลายผสมระหว่างสารละลายเมทีนามีน/บอแรกซ์และสารละลายซิลเวอร์ไนเตรตที่อุ่น
    แล้วแกว่งเป็นวงกลมเป็นเวลา **10-30** วินาที
12. หากจำเป็นให้ดำเนินการขั้นที่ **10** และ **11** ซ้ำ จนกว่าจะสังเกตพบการสะสมของเงินในระดับที่น่าพอใจ
13. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **6** ครั้ง
14. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโกลด์คลอไรด์เป็นเวลา **5** นาที
15. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นที่เปลี่ยนใหม่ **3** ครั้ง
16. นำสไลด์ใส่ในสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเป็นเวลา **2** นาที
17. ล้างสไลด์ให้ทั่วในน้ำประปาแบบไหลผ่านเป็นเวลา **2** นาที
18. นำสไลด์ใส่ใน **SF** สีเขียวอ่อนเป็นเวลา **40** วินาที
19. ล้างสไลด์ในน้ำปราศจากไอออนหรือน้ำกลั่นสักครู่
20. ขจัดน้ำในสไลด์ในแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ที่เปลี่ยน **3** ครั้ง
21. ทำให้เนื้อเยื่อใสในไซลีนที่เปลี่ยน **2** ครั้ง และติดในตัวกลางในการติดที่เข้ากันได้กับไซลีน

ความพร้อมใช้งาน

เมื่อเลือกระเบียบวิธีการย้อมที่เหมาะสม และสร้างรูปแบบการแช่น้ำยาแล้ว ให้เทน้ำยาทั้งหมดลงในภาชนะตัวทำปฏิกิริยา
วางภาชนะตัวทำปฏิกิริยาคืนกลับที่สเตชั่นเดิม

การควบคุมคุณภาพ

ควรมีแผ่นสไลด์ควบคุมคุณภาพที่มีเนื้อเยื่อที่ทราบว่ามีส่วนประกอบของเชื้อราที่ตรึงสภาพและผ่านกระบวนการในลักษณะที่คล้ายกับสิ่งส่งตรวจที่ทดสอบรวมอยู่ด้วยในการตรวจวิเคราะห์การย้อมแต่ละรายการ เพื่อให้แน่ใจว่าชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ทำงานตามที่มุ่งหมาย

ผลที่คาด

- รา – สีดำที่แสดงขอบเขตคมชัด
- ส่วนด้านในของกลุ่มเส้นใยและเส้นใยเดี่ยว – สีน้ำตาลอมเทาถึงสีชมพูคล้ำ **(old rose)**
- มิวซิน – สีน้ำตาลอมเทาถึงสีเทาเข้ม
- พื้นหลัง – สีเขียว

ประสิทธิภาพการวิเคราะห์

ชุด **Grocott's Methenamine Silver Stain** สูตรปรับปรุง **Leica Biosystems** ไม่ใช้ในการตรวจหาสิ่งที่วิเคราะห์หรือตัวบ่งชี้ที่จำเพาะ
ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ใช้สำหรับการแสดงให้เห็นเชื้อราที่กำหนดและเชื้อโรคต่าง ๆ เช่น ***Aspergillus sp., Pneumocystis carinii และ Cryptococcus neoformans*** ในชิ้นเนื้อเยื่อที่ตรึงสภาพด้วยฟอร์มาลินและฝังในพาราฟิน พารามิเตอร์ด้านการวิเคราะห์ เช่น ความไวในการวินิจฉัย
ความจำเพาะในการวินิจฉัย ความแท้จริง (ความเอนเอียง) ความเที่ยงตรง (การทำซ้ำได้และการผลิตซ้ำได้) ความแม่นยำ
(ผลจากความแท้จริงและความเที่ยงตรง) ข้อจำกัดการตรวจจับและการวัดปริมาณ ช่วงการวัดค่า ความเป็นเส้นตรง ค่าตรวจตัด
ซึ่งรวมถึงการกำหนดเกณฑ์ที่เหมาะสมในการเก็บสิ่งส่งตรวจและการหยิบจับและควบคุมสิ่งรบกวนภายในและภายนอกที่เกี่ยวข้องที่ทราบ
ปฏิกิริยาข้ามกันไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของระบบนี้

ชุดย้อมสีพิเศษ
สารย้อมสีเมทีนามีนซิลเวอร์ของ Grocott สูตรปรับปรุง (Modified Grocott's Methenamine Silver Stain)

REF 38016SS12

ประสิทธิภาพทางคลินิก

ชุด **Grocott's Methenamine Silver Stain** สูตรปรับปรุง **Leica Biosystems**
ไม่ได้มุ่งหมายเพื่อการใช้เป็นวิธีการตรวจหาโรคหรือกระบวนการทางพยาธิวิทยาหรือระยะที่เจาะจง ดรรชนีประสิทธิภาพทางคลินิก เช่น ความไวในการวินิจฉัย ความจำเพาะในการวินิจฉัย ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ อัตราส่วนความน่าจะเป็นตลอดจนค่าคาดหมายในประชากรปกติและประชากรที่ได้รับผล ไม่เกี่ยวข้องกับการใช้สารปรับสี **Leica Biosystems** ในสภาพแวดล้อมทางคลินิก

การกำจัดทิ้ง

ควรกำจัดชุดย้อมสีพิเศษ **GMS** ที่ใช้แล้วหรือที่หมดอายุตามระเบียบข้อบังคับขององค์กร ท้องถิ่น รัฐ และสหพันธรัฐ

Özel Boyama Kiti
Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama

REF 38016SS12

Ürün Adı

Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama (GMS) Özel Boyama Kiti.

Kullanım Amacı

Tespit/Ölçüm

Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama (GMS) Kiti bir analit veya belirteci saptamaz ya da ölçmez.

Uygun histolojik protokollerle birlikte kullanıldığında Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü doku kesitlerinde *Aspergillus sp.*, *Pneumocystis carinii, ve Cryptococcus neoformans* gibi tanımlanmış mantarların ve bulaşıcı maddelerin gösterilmesi için kullanılabilir.

Ürün Fonksiyonu

GMS Özel Boyama Kiti kullanılarak elde edilen sonuçlar objektif tıbbi kanıt sağlamaz. Leica Biosystems GMS Özel Boyama Kitinin histolojik numunelere sağladığı renklendirme ve kontrast, mikroskobik anatominin görselleştirilmesini sağlar. Bu görselleştirme, eğitimli bir profesyonel tarafından yorumlandığında, hastanın tıbbi geçmişi, fiziksel durumunun yanı sıra, diğer tıbbi testlerden elde edilen sonuçlar gibi diğer bilgilerle birlikte, tıbbi bir tanı sağlamak için kullanılır.

Sağlanan Özel Bilgiler

Leica Biosystems GMS Kiti, belirli bir bozukluk, rahatsızlık veya risk faktörünün tespit edilmesi, tanımlanması veya ayırt edilmesine yönelik değildir. Bu ürünlerin kullanımıyla gösterilen boyama, amaçlandığı şekilde kullanıldığında, eğitimli uzmanlara doku numunesinin fizyolojik veya patolojik durumunu tanımlayabilecek bilgiler sağlar.

Otomasyon

GMS özel boyama kiti otomatik değildir ancak otomatik boyama platformlarında kullanılabilir. Otomatik bir platformda kullanımın geçerliliği, kullanım noktasında doğrulanmalıdır.

Kalitatif/Kantitatif

Leica Biosystems GMS Özel Boyama Kiti, kalitatif bir boyadır.

Numune Türü

GMS özel boyama kiti herhangi bir parafine gömülü insan veya hayvan numunesinde kullanılabilir.

Test Popülasyonu

Leica Biosystems GMS Kiti, şüpheli bir patoloji veya hastalığın değerlendirilmesi için biyopsi veya rezeksiyon dokusunun değerlendirilmesini gerektiren herhangi bir hastada kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Amaçlanan Kullanıcı

GMS Özel Boyama Kiti, nitelikli laboratuvar personeli ve/veya laboratuvar görevlisi tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

***In Vitro* Tanılama**

GMS Kiti, sadece *in vitro* tanısal kullanım için amaçlanmıştır.

Test Prensibi

Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama'in etki mekanizması, aldehit gruplarının katyonik gümüşü (Ag+) metalik gümüşe indirgeme kapasitesini baz almaktadır. Kromik asit, örneğin glikojen, müsin, retikülin ve mantar hücre duvarları gibi polisakkarit açısından zengin doku bileşenleri içerisinde 1-2 glikol grubu oksidasyonu ile aldehit grupları oluşturmak üzere kullanılır. Metenamin-gümüş iyon kompleksi formunda kesite katyonik gümüş eklendiğinde aldehit grupları, gümüş iyonlarını metalik gümüşe indirgemektedir. Kesitler sonrasında, metalik gümüşten daha kararlı olan ve üstün kontrast ve netlik sağlayan metalik altın üretmek için Altın Klorür Solüsyonu ile tonlanır.

Modifiye Kromik Asit Solüsyonunun güçlü oksitleme potansiyeli nedeniyle ortaya çıkan aldehit gruplarının çoğu, gümüşü indirgeme kapasitesine sahip olmayan karboksil içeren asit gruplarına oksitlenir. Modifiye Kromik Asit Solüsyonunun bu kapasitesi, kolajen ve bazal membranların arka plan reaksiyonlarını azaltma avantajına sahip olmakla birlikte örneğin glikojen, müsin ve mantar hücre duvarları gibi sadece yüksek seviyelerde reaktif polisakkarid gruplarına sahip bu yapılarda gümüş ile güçlü bir emprenye üretir.

Kalibratörler ve Kontroller

GMS Kiti için herhangi bir kalibratör veya kontrol kullanılması gerekmez.

Reaktif Sınırlamaları

Bu ürün için hiçbir reaktif sınırlaması geçerli değildir.

Özel Boyama Kiti
Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama

REF 38016SS12

Geçerli Ürünler

Ürün Kodu	Materyal Tanımı
38016SS12	Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama (GMS) Özel Boyama Kiti
38016SS12A	Modifiye Kromik Asit Solüsyonu, 500 ml
38016SS12B	Sodyum Bisülfür Solüsyonu, 500 ml
38016SS12C	Gümüş Nitrat Solüsyonu, 250 ml
38016SS12D	Metenamin/Boraks Solüsyonu, 250 ml (A)
38016SS12E	Altın Klorür Solüsyonu, 500 ml
38016SS12F	Sodyum Tiyosülfat Solüsyonu, 500 ml
38016SS12G	Açık Yeşil SF, 500 ml

Not: (A). Soğutulmuş Metenamin/Boraks Solüsyonu (Ürün No. 38016SS12D, 250 ml) GMS Kitinde bulunmaz. Ürünün ayrıca sipariş edilmesi gerekir ve ayrıca gönderilecektir.

Dahil Edilmeyen Materyaller

GMS Özel Boyama Kiti protokolü, dereceli alkoller, ksilen veya ksilen yerine geçen maddeler, iyondan arındırılmış veya damıtılmış su gerektirir. Mantar elemanları içerdiği bilinen dokularla pozitif kontrol lam(lar)ının (kite dahil değil), her çalışmada eklenmesi gerekir.

Gerekli Cihazlar

Leica Biosystems GMS Özel Boyama Kiti, herhangi bir otomatik boyama platformunda veya manuel boyama yöntemiyle kullanılabilir.

Saklama ve Stabilite

Metenamin/Boraks Solüsyonunun 2–8 °C'de (36–46 °F) saklanması gerekir. Diğer bileşenleri 15–30 °C (59–86 °F) oda sıcaklığında saklayın.
UYARI: Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.

Kullanımda Dayanıklılık

Kullanımda stabilite belirlenirken takdir yetkisi kullanıcıda olmalıdır.

Sterilite

GMS Özel Boyama Kiti bileşenleri steril ürünler değildir.

Uyarılar/Önlemler

Laboratuvar reaktifleri işlenirken normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, bölgesel veya ulusal düzenlemelere göre atın. Risk, tehlike veya güvenlik güncellemeleri için Malzeme Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine başvurun Bilgi.

Bulaşıcı Madde Durumu

GMS Özel Boyama Kitinde herhangi bir bulaşıcı madde bulunmaz. Ancak, fiksasyon öncesinde ve sonrasında numunelere ve bunlara maruz kalmış tüm materyallere enfeksiyon bulaştırma potansiyeline sahipmiş gibi davranılması ve tesis kılavuz ilkelerine göre uygun önlemlerle atılmaları gereklidir.

Özel Tesisler

GMS Özel Boyama Kiti, tesis kılavuz ilkelerine göre kullanılmalıdır.

Numune İşleme

Önerilen fiksatifler arasında %10 nötr tamponlu formalin yer alır. Rutin dehidrasyon, temizleme ve parafin infiltrasyonu ve gömme ve rutin mikrotom kesitleri hazırlama. Yetersiz fiksasyon, işleme, rehidrasyon ve kesitleme, boyama kalitesini olumsuz etkiler. İşleme ve parafine gömmenin ardından, 4-6 mikronluk kesitler halinde kesin.

Kullanım Hazırlığı

Boyamadan önce, asitle temizlenmiş ayrı laboratuvar bardaklarına 20 ml Metenamin/Boraks Solüsyonu ve 20 ml Gümüş Nitrat Solüsyonu koyun. Solüsyonları 50–55 °C sıcaklığa kadar ısıtın ve gümüş ile emprenyeden hemen önce iki solüsyonu asitle yıkanmış bir Coplin kavanozunda birleştirin.

Notlar:

- **Solüsyonlar, bir su banyosu veya laboratuvar fırını kullanılarak ısıtılabilir. 50 °C üzerindeki sıcaklıklarda Metenaminin parçalanması hızlandığından dolayı aşırı ısıtmadan kaçının.**

Özel Boyama Kiti
Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama

REF 38016SS12

- Durulama olarak kullanmak için ikinci bir Coplin kavanozunu 40 ml iyondan arındırılmış veya damıtılmış suyla 50–55 °C sıcaklığa kadar önceden ısıtın.

Kullanım Talimatı

Geleneksel Boyama Protokolü

1. Doku kesitlerini ksilen ile deparafinize edin ve dereceli alkoller yoluyla iyondan arındırılmış suya veya damıtılmış suya yeniden ıslatın.
2. Lamları, oda sıcaklığında 5 –10 dakika boyunca Modifiye Kromik Asit Solüsyonunda bırakın.
   Lütfen şuna dikkat edin: Modifiye Kromik Asit Solüsyonunu kullanırken dikkatli olun.
3. Lamları musluk suyunu iki kez değiştirerek durulayın.
4. Lamları iki farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
5. Lamları 1 dakika boyunca Sodyum Bisülfür Solüsyonda bırakın.
6. Lamları 30 saniye boyunca akan musluk suyunda durulayın.
7. Lamları iki farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
8. Önceden ısıtılmış Gümüş Nitrat Solüsyonu ve Metenamin/Boraks Solüsyonunu önceden ısıtılmış asitle temizlenmiş Coplin kavanozunda birleştirin.
9. Lamları Metenamin/Boraks-Gümüş Nitrat Solüsyonuna yerleştirin ve 50–55 °C sıcaklıkta 20–45 dakika boyunca inkübe edin. 15-20 dakika sonra metalik olmayan forseps kullanarak bir kontrol lamı çıkarın, durulamak için önceden ısıtılmış iyondan arındırılmış suya daldırın ve gümüş birikintilerinin bütünlüğü açısından mikroskobik olarak kontrol edin.
10. Lamları 6 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
11. Lamları 5 dakika boyunca Altın Klorür Solüsyonunda bırakın.
12. Lamları 3 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış su ile durulayın.
13. Lamları 2 dakika boyunca Sodyum Tiyosülfat Solüsyonunda bırakın.
14. Lamları 2 dakika boyunca akan musluk suyu altında tamamen durulayın.
15. Lamları 40 saniye boyunca Açık Yeşil SF'de bırakın.
16. Lamları iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda kısaca durulayın.
17. Lamları mutlak alkolü üç kez değiştirerek kurulayın.
18. İki farklı ksilende lamları temizleyip ksilen ile karışır bir ortama yerleştirin.

Tablo 1. Konvansiyonel GMS Özel Boyama Kiti Boyama Protokolü Örneği.

Adımlar	İşlem	Kimyasal	Süre (dd: ss)
1-3	Deparafinizasyon	Ksilen	3:00
4-5	Hidrasyon	%100 Alkol	2:00
6	Hidrasyon	%80 veya %95 Alkol	1:00
7	Hidrasyon	İyondan Arındırılmış Su	1:00
8	Boyama	Modifiye Kromik Asit Solüsyonu	5:00-10:00
9-10	Yıkama	Musluk Suyu	0:30
11-12	Durulayın	İyondan Arındırılmış Su	0:10
13	Nötralize Edin	Sodyum Bisülfür Solüsyonu	1:00
14	Durulayın	Akan Çeşme Suyu	0:30
15-16	Durulayın	İyondan Arındırılmış Su	0:10
17	Boyama/Empreny e	Metenamin/Boraks-Gümüş Nitrat Solüsyonu	50–55 °C'de 20:00-45:00
18-23	Durulayın	İyondan Arındırılmış Su	0:10
24	Dehidrasyon	Altın Klorür Solüsyonu	5:00
25-27	Durulayın	İyondan Arındırılmış Su	0:10
28	Boyama	Sodyum Tiyosülfat Solüsyonu	2:00
29	Durulayın	Akan Çeşme Suyu	2:00
30	Karşıt boya	Açık yeşil SF	0:40
31	Durulayın	İyondan Arındırılmış Su	0:30

Özel Boyama Kiti
Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama

REF 38016SS12

32-34	Dehidrasyon	%100 Alkol	2:00
35-36	Temizleme	Ksilen	2:00

Not: Ksilen yerine geçen madde kullanıldığında daldırma sürelerini yaklaşık %50'ye kadar artırın.

Mikrodalga Boyama Protokolü

Herhangi bir solüsyonu veya reaktifi ısıtmak için mikrodalga kullanırken dikkatli olun. Laboratuvarda duman birikmesini önlemek için mikrodalga uygun şekilde havalandırılmalıdır. Boyama işlemi sırasında mikrodalgalar için şeffaf Coplin kavanozlar ve kapakların kullanılması gerekir. Dökülmeleri önlemek için kapaklar geniş bırakılarak uygulanmalıdır. Havalandırma delikleri olan kapaklar da kullanılabilir. Tüm mikrodalgalar üreticinin talimatı doğrultusunda kullanılmalıdır.

1. Doku kesitlerini ksilen ile deparafinize edin ve dereceli alkoller yoluyla iyondan arındırılmış suya veya damıtılmış suya yeniden ıslatın.
2. Lamları Modifiye Kromik Asit Solüsyonuna yerleştirip 10 saniye boyunca 800 watt'ta mikrodalgada ısıtın. Lütfen şuna dikkat edin: Modifiye Kromik Asit Solüsyonunu kullanırken dikkatli olun.
3. Coplin kavanozu hafifçe çalkalayarak karıştırıp 1 dakika bekletin.
4. Lamları 6 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
5. Lamları 1 dakika boyunca Sodyum Bisülfür Solüsyonda bırakın.
6. Lamları 6 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
7. Asitle temizlenmiş plastik bir Coplin kavanozunda 20 ml Gümüş Nitrat Solüsyonu ve 20 ml Metenamin/Boraks Solüsyonunu birleştirin.
8. Lamları solüsyona yerleştirip 45-50 saniye boyunca 600 watt'ta mikrodalgada ısıtın.
9. Coplin kavanozu hafifçe çalkalayarak karıştırıp 2 dakika bekletin.
10. 600 watt'ta 10 saniye boyunca solüsyonu mikrodalgada ısıtın.
11. Solüsyonu hafifçe sallayın ve metalik olmayan forseps kullanarak bir kontrol lamı çıkarıp durulamak için önceden ısıtılmış iyondan arındırılmış suya daldırın ve gümüş emprenyenin bütünlüğü açısından mikroskobik olarak kontrol edin. Gerekirse lamları ılık Metenamin/Boraks Gümüş Nitrat Solüsyonunda değiştirin ve 10–30 saniye boyunca karıştırın.
12. Gerekirse, istenen düzeyde gümüş birikintisi gözlemlenene kadar 10. ve 11. adımları tekrarlayın.
13. Lamları 6 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
14. Lamları 5 dakika boyunca Altın Klorür Solüsyonunda bırakın.
15. Lamları 3 farklı iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda durulayın.
16. Lamları 2 dakika boyunca Sodyum Tiyosülfat Solüsyonunda bırakın.
17. Lamları 2 dakika boyunca akan musluk suyu altında tamamen durulayın.
18. Lamları 40 saniye boyunca Açık Yeşil SF'de bırakın.
19. Lamları iyondan arındırılmış veya damıtılmış suda kısaca durulayın.
20. Lamları 3 farklı mutlak alkolde kurulayın.
21. 2 farklı ksilende lamları temizleyip ksilen ile karışır bir ortama yerleştirin.

Kullanıma Hazır Olma

Uygun boyama protokolü seçildikten ve banyo düzeni oluşturulduktan sonra, tüm reaktifi reaktif kabına aktarın. Reaktif kabını ilgili istasyona geri koyun.

Kalite Kontrolü

GMS Özel Boyama Kitin amaçlandığı gibi çalıştığından emin olmak için, test numunelerine benzer şekilde fikse edilmiş ve işlenmiş, mantar elemanlarını içerdiği bilinen dokuya sahip bir kalite kontrol lam(lar)ının her boyama testine dahil edilmesi gerekir.

Beklenen Sonuçlar

- Mantar – keskin sınırlı siyah
- Miselyum ve hifaların iç kısımları – boz kahverengiden gül kurusuna
- Müsin – boz kahverengiden koyu griye
- Arkaplan – yeşil

Analitik Performans

Leica Biosystems Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama Kitleri, bir belirli bir analit veya belirteci saptamak için kullanılmaz. Bu ürünler, formalinle fikse edilmiş, parafine gömülü doku kesitlerinde *Aspergillus sp., Pneumocystis carinii, ve Cryptococcus neoformans* gibi tanımlanmış mantarların ve bulaşıcı maddelerin gösterilmesi için kullanılır. Uygun olanın belirlenmesi dahil numune toplama ve işleme kriterleri ve bilinen ilgili endojen ve eksojen girişimin kontrolü, çapraz

reaksiyonlar, analitik duyarlılık, analitik özgüllük, gerçeklik (yanlılık), kesinlik (tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik), doğruluk (gerçeklik ve kesinlikten kaynaklanan), tespit ve nicelik sınırları, ölçüm aralığı, doğrusallık, kesme gibi analitik parametreler bu sistemin performansı için geçerli değildir.

Özel Boyama Kiti
Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama

REF 38016SS12

Klinik Performans

Leica Biosystems Modifiye Grocott Metenamin Gümüş Boyama Kitleri, belirli bir hastalığı veya patolojik süreci ya da durumu tespit etme aracı olarak kullanılmak üzere tasarlanmamıştır. Tanısal duyarlılık, tanısal özgüllük, pozitif kestirim değeri, negatif kestirim değeri ve olasılık oranının yanı sıra, normal ve durumdan etkilenen popülasyonlarda beklenen değerler gibi klinik performans göstergeleri, klinik ortamda Leica Biosystems Mavileştirme Maddelerinin kullanımı için geçerli değildir.

Atma

GMS Özel Boyama Kitinin harcanmış veya son kullanma tarihi geçmiş bileşenleri kurumsal, yerel, eyalet ve federal düzenlemelere uygun biçimde atılmalıdır.

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt
Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính

REF 38016SS12

Tên sản phẩm

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine (Grocott’s Methenamine Silver Stain, GMS) biến tính.

Mục đích sử dụng

Phát hiện/Đo lường

Bộ dụng cụ Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine (GMS) biến tính không phát hiện hoặc đo lường chất phân tích hoặc chất đánh dấu. Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính khi được dùng với các quy trình mô học thích hợp có thể được sử dụng để biểu hiện nấm hoặc các tác nhân lây nhiễm đã định như các loài *Aspergillus*, *Pneumocystis carinii, và Cryptococcus neoformans* trong các lát cắt mô nhúng parafin đã được cố định bằng formalin**.**

Chức năng sản phẩm

Các kết quả thu được thông qua việc sử dụng Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS không cung cấp bằng chứng y tế khách quan. Màu sắc và độ tương phản mà Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS của Leica Biosystems cung cấp cho các mẫu mô học và tế bào học cho phép hiển thị hình ảnh giải phẫu dưới kính hiển vi. Hình ảnh hiển thị này, khi được lý giải bởi chuyên gia có trình độ, sẽ được sử dụng cùng với các thông tin khác như bệnh sử, tình trạng thể chất, cùng kết quả từ các xét nghiệm y tế khác của bệnh nhân để đưa ra chẩn đoán y khoa.

Thông tin cụ thể được cung cấp

Bộ dụng cụ GMS của Leica Biosystems không được dùng để phát hiện, xác định hoặc phân biệt một rối loạn, tình trạng hoặc yếu tố nguy cơ cụ thể. Kết quả nhuộm biểu hiện với việc sử dụng các sản phẩm này, khi được sử dụng đúng mục đích, sẽ cung cấp cho các chuyên gia có trình độ những thông tin giúp xác định trạng thái sinh lý hoặc bệnh lý của mẫu mô.

Tự động hóa

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS không được tự động hóa nhưng có thể được sử dụng trên các nền tảng nhuộm tự động. Phải xác nhận việc sử dụng trên nền tảng tự động tại thời điểm sử dụng.

Định tính/Định lượng

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS của Leica Biosystems là thuốc nhuộm định tính.

Loại mẫu

Có thể sử dụng Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS với bất kỳ mẫu nào đã được nhúng parafin lấy từ người hoặc động vật.

Nhóm đối tượng xét nghiệm

Bộ dụng cụ GMS của Leica Biosystems được thiết kế để sử dụng với bất kỳ bệnh nhân nào yêu cầu đánh giá sinh thiết hoặc cắt bỏ mô phục vụ cho việc đánh giá bệnh tật hoặc bệnh lý nghi ngờ.

Người dùng mục tiêu

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS được thiết kế để sử dụng bởi các nhân viên phòng thí nghiệm có trình độ và/hoặc người được chỉ định của phòng thí nghiệm.

Chẩn đoán trong ống *nghiệm*

Bộ dụng cụ GMS chỉ được thiết kế để sử dụng cho các chẩn đoán trong ống nghiệm.

Nguyên lý xét nghiệm

Cơ chế tác dụng của Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính là dựa trên khả năng của nhóm andehit khử cation bạc (Ag+) thành bạc kim loại. Axit chromic được sử dụng để tạo ra các nhóm andehit bằng cách oxi hóa các nhóm 1-2 glycol trong các thành phần mô giàu polysaccaride, ví dụ: glycogen, mucin, reticulin và thành tế bào nấm. Khi cation bạc được thêm vào lát cắt dưới dạng phức chất methenamine-ion bạc, các nhóm andehit sẽ khử các ion bạc thành bạc kim loại. Các lát cắt sau đó được hiện màu bằng dung dịch vàng chloride để tạo ra vàng kim loại bền hơn bạc kim loại và tạo độ tương phản và độ rõ cao hơn.

Do khả năng oxi hóa mạnh của dung dịch axit chromic biến tính, nhiều nhóm andehit tạo ra được oxi hóa tiếp thành các nhóm axit carboxylic không có khả năng khử bạc. Khả năng này của dung dịch axit chromic biến tính có ưu điểm là giảm các phản ứng nền của collagen và màng đáy, và tạo ra sự thấm bạc mạnh chỉ trong những cấu trúc có mức cao các nhóm polysaccharide phản ứng, ví dụ như glycogen, mucin và thành tế bào nấm.

Chất hiệu chuẩn & chất đối chứng

Bộ dụng cụ GMS không yêu cầu sử dụng bất kỳ chất hiệu chuẩn hoặc chất đối chứng nào.

Giới hạn của thuốc thử

Không có giới hạn thuốc thử nào được áp dụng cho sản phẩm này.

Sản phẩm áp dụng

Mã sản phẩm	Mô tả vật liệu
38016SS12	Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine (GMS) biến tính
38016SS12A	Dung dịch axit chromic biến tính, 500 ml
38016SS12B	Dung dịch natri bisulfite, 500 ml
38016SS12C	Dung dịch bạc nitrate, 250 ml
38016SS12D	Dung dịch methenamine/borax, 250 ml (A)
38016SS12E	Dung dịch vàng chloride, 500 ml
38016SS12F	Dung dịch natri thiosulfate, 500 ml
38016SS12G	SF màu xanh lục nhạt, 500 ml

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt
Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính

REF 38016SS12

Lưu ý: (A). Dung dịch methenamine/borax lạnh (Mã sản phẩm 38016SS12D, 250 ml) không được bao gồm trong Bộ dụng cụ GMS. Sản phẩm này phải được đặt hàng riêng và sẽ được giao riêng.

Vật liệu không được bao gồm

Quy trình của Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS yêu cầu sử dụng cồn chia độ, xylen hoặc các chất thay thế xylen, nước khử ion hoặc nước cất. Nên đưa vào sử dụng (các) phiến kính đối chứng dương có chứa các phần tử nấm (không được bao gồm trong bộ dụng cụ này) trong mỗi lần chạy.

Thiết bị cần thiết

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS của Leica Biosystems có thể được sử dụng trên bất kỳ nền tảng nhuộm tự động nào hoặc bằng phương pháp nhuộm thủ công.

Bảo quản và độ ổn định

Nên bảo quản Dung dịch methenamine/borax ở 2–8 °C (36–46 °F). Bảo quản các thành phần khác ở nhiệt độ phòng 15–30 °C (59–86 °F). THẬN TRỌNG**:** Không sử dụng sau khi đã hết hạn.

Độ ổn định khi sử dụng

Người dùng nên thận trọng khi xác định tính ổn định khi sử dụng.

Vô trùng

Các thành phần của Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS là sản phẩm không vô trùng.

Cảnh báo/Biện pháp phòng ngừa

Nên tuân thủ các biện pháp phòng ngừa thông thường trong việc xử lý các thuốc thử phòng thí nghiệm. Thải bỏ chất thải tuân theo tất cả các quy định của địa phương, tiểu bang, tỉnh thành hoặc quốc gia. Tham khảo Bảng dữ liệu an toàn vật liệu và nhãn sản phẩm để biết bất kỳ thông tin cập nhật nào nguy cơ, nguy hiểm hoặc tính an toàn.

Tình trạng vật liệu truyền nhiễm

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS không bao gồm bất kỳ vật liệu truyền nhiễm nào. Tuy nhiên, mẫu, trước và sau khi cố định, cùng tất cả các vật liệu tiếp xúc với chúng, phải được xử lý như thể chúng có khả năng truyền nhiễm trùng và phải được tiêu hủy với các biện pháp phòng ngừa thích hợp theo các hướng dẫn của cơ sở.

Cơ sở đặc biệt

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS nên được sử dụng theo hướng dẫn của cơ sở.

Xử lý mẫu

Các chất hãm được đề xuất bao gồm formalin đệm trung tính 10%. Khử nước, làm trong, thấm và nhúng parafin thường quy, và chuẩn bị cắt microtome thường quy. Sự cố định, xử lý, bù nước và cắt không tốt sẽ ảnh hưởng xấu đến chất lượng nhuộm. Sau khi xử lý và nhúng parafin, cắt thành các lát 4–6 micron.

Chuẩn bị trước khi sử dụng

Trước khi nhuộm, cho 20 ml Dung dịch methenamine/borax và 20 ml Dung dịch bạc nitrate vào các cốc beaker riêng biệt đã được làm sạch bằng axit. Làm nóng các dung dịch đến 50–55 °C và ngay trước khi thấm bạc, kết hợp hai dung dịch này vào một hộp nhuộm lam Coplin đã được rửa bằng axit.

Lưu ý:

- Có thể làm nóng các dung dịch bằng bồn nước hoặc tủ sấy của phòng thí nghiệm. Tránh làm nóng đến nhiệt độ quá cao vì methenamine bị phân hủy nhanh hơn ở nhiệt độ trên 50 °C.
- Làm nóng sơ bộ một hộp nhuộm lam Coplin thứ hai chứa 40 ml nước khử ion hoặc nước cất đến 50–55 °C để sử dụng làm nước tráng.

Hướng dẫn sử dụng

Quy trình nhuộm truyền thống

1. Khử parafin các lát cắt mô bằng xylen và bù nước thông qua cồn chia độ đến nước khử ion hoặc nước cất.
2. Đặt các phiến kính vào Dung dịch axit chromic biến tính trong 5–10 phút ở nhiệt độ phòng.
   Vui lòng lưu ý: Thận trọng khi thao tác Dung dịch axit chromic biến tính.
3. Tráng các phiến kính trong hai lần thay nước máy.
4. Tráng các phiến kính trong hai lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
5. Đặt các phiến kính vào Dung dịch natri bisulfite trong 1 phút.
6. Tráng các phiến kính dưới nước máy đang chảy trong 30 giây.
7. Tráng các phiến kính trong hai lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
8. Kết hợp Dung dịch bạc nitrate và Dung dịch methenamine/borax đã làm ấm trước vào hộp nhuộm lam Coplin được rửa bằng axit đã làm ấm trước.
9. Đặt các phiến kính vào Dung dịch methenamine/borax-bạc nitrate và ủ trong 20–45 phút ở 50–55 °C. Sau 15–20 phút, sử dụng kẹp forceps không bằng kim loại, lấy một phiến kính đối chứng, nhúng vào nước khử ion đã làm ấm trước để tráng và kiểm tra dưới kính hiển vi xem sự trọn vẹn của quá trình lắng đọng bạc.
10. Tráng các phiến kính trong 6 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
11. Đặt các phiến kính vào Dung dịch vàng chloride trong 5 phút.
12. Tráng các phiến kính trong 3 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt
Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính

REF 38016SS12

13. Đặt các phiến kính vào Dung dịch natri thiosulfate trong 2 phút.
14. Tráng kỹ lưỡng các phiến kính dưới vòi nước chảy trong 2 phút.
15. Đặt các phiến kính vào SF màu xanh lục nhạt trong 40 giây.
16. Tráng sơ các phiến kính trong nước khử ion hoặc nước cất.
17. Khử nước các phiến kính trong ba lần thay cồn tuyệt đối.
18. Làm trong các phiến kính trong hai lần thay xylen và gắn trong môi trường có thể trộn lẫn với xylen.

Bảng 1. Ví dụ về quy trình nhuộm truyền thống của Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS.

Bước	Hành động	Hóa chất	Thời gian (mm:ss)
1-3	Khử parafin	Xylen	3:00
4-5	Bù nước	Cồn 100%	2:00
6	Bù nước	Cồn 80% hoặc 95%	1:00
7	Bù nước	Nước khử ion	1:00
8	Nhuộm	Dung dịch axit chromic biến tính	5:00-10:00
9-10	Rửa	Nước máy	0:30
11-12	Tráng	Nước khử ion	0:10
13	Trung hòa	Dung dịch natri bisulfite	1:00
14	Tráng	Nước máy đang chảy	0:30
15-16	Tráng	Nước khử ion	0:10
17	Nhuộm/thấm	Dung dịch methenamine/borax-bạc nitrate	20:00-45:00 @ 50–55 °C
18-23	Tráng	Nước khử ion	0:10
24	Khử nước	Dung dịch vàng chloride	5:00
25-27	Tráng	Nước khử ion	0:10
28	Nhuộm	Dung dịch natri thiosulfate	2:00
29	Tráng	Nước máy đang chảy	2:00
30	Nhuộm tương phản	SF màu xanh lục nhạt	0:40
31	Tráng	Nước khử ion	0:30
32-34	Khử nước	Cồn 100%	2:00
35-36	Làm trong	Xylen	2:00

Lưu ý: Khi sử dụng chất thay thế xylen, tăng số lần nhúng lên khoảng 50%.

Quy trình nhuộm bằng vi sóng

Thận trọng khi sử dụng lò vi sóng để làm nóng bất kỳ dung dịch hoặc thuốc thử nào. Lò vi sóng phải được thông gió đúng cách để ngăn tích tụ khói trong phòng thí nghiệm. Nên sử dụng hộp nhuộm lam Coplin và nắp trong suốt với vi sóng trong quy trình nhuộm này. Nên đậy hờ nắp để ngăn tràn. Cũng có thể sử dụng nắp có lỗ thông hơi. Phải sử dụng tất cả các lò vi sóng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

1. Khử parafin các lát cắt mô bằng xylen và bù nước thông qua cồn chia độ đến nước khử ion hoặc nước cất.
2. Đặt các phiến kính vào Dung dịch axit chromic biến tính và bật vi sóng ở 800 oát trong 10 giây.
   Vui lòng lưu ý: Thận trọng khi thao tác Dung dịch axit chromic biến tính.
3. Nhẹ nhàng trộn bằng cách khuấy hộp nhuộm lam Coplin và để yên trong 1 phút.
4. Tráng các phiến kính trong 6 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
5. Đặt các phiến kính vào Dung dịch natri bisulfite trong 1 phút.
6. Tráng các phiến kính trong 6 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
7. Kết hợp 20 ml Dung dịch bạc nitrate và 20 ml Dung dịch methenamine/borax trong một hộp nhuộm lam Coplin đã được làm sạch bằng axit.
8. Đặt các phiến kính vào dung dịch đó và bật vi sóng ở 600 oát trong 45–50 giây.
9. Nhẹ nhàng trộn bằng cách khuấy hộp nhuộm lam Coplin và để yên trong 2 phút.
10. Bật vi sóng dung dịch trong 10 giây ở 600 oát.
11. Nhẹ nhàng khuấy dung dịch và sử dụng kẹp forceps không bằng kim loại để lấy một phiến kính đối chứng, nhúng vào nước khử ion đã làm ấm trước để tráng và kiểm tra dưới kính hiển vi để xem sự trọn vẹn của quá trình lắng đọng bạc. Nếu cần, đặt lại các phiến kính vào Dung dịch methenamine/borax-bạc nitrate ấm và khuấy trong 10–30 giây.

Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt
Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính

REF 38016SS12

12. Nếu cần, lặp lại các bước 10 và 11 cho đến khi quan sát thấy mức độ lắng đọng bạc mong muốn.
13. Tráng các phiến kính trong 6 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
14. Đặt các phiến kính vào Dung dịch vàng chloride trong 5 phút.
15. Tráng các phiến kính trong 3 lần thay nước khử ion hoặc nước cất.
16. Đặt các phiến kính vào Dung dịch natri thiosulfate trong 2 phút.
17. Tráng kỹ lưỡng các phiến kính dưới vòi nước chảy trong 2 phút.
18. Đặt các phiến kính vào SF màu xanh lục nhạt trong 40 giây.
19. Tráng sơ các phiến kính trong nước khử ion hoặc nước cất.
20. Khử nước các phiến kính trong 3 lần thay cồn tuyệt đối.
21. Làm trong các phiến kính trong 2 lần thay xylen và gắn trong môi trường có thể trộn lẫn với xylen.

Mức độ sẵn sàng để sử dụng

Sau khi chọn quy trình nhuộm phù hợp và tạo lớp phủ, đổ tất cả thuốc thử vào ngăn chứa thuốc thử. Đặt ngăn chứa thuốc thử trở lại vào trạm tương ứng.

Kiểm soát chất lượng

Một phiến kính kiểm soát chất lượng chứa mô đã biết là có chứa các phần tử nấm, được cố định và xử lý theo cách tương tự với các mẫu xét nghiệm nên được bao gồm trong mỗi xét nghiệm nhuộm màu để đảm bảo Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS đang hoạt động như dự kiến.

Các kết quả dự kiến

- Nấm – màu đen phân định rõ ràng
- Các phần bên trong của hệ sợi và sợi nấm – màu nâu sẫm đến hồng sậm
- Mucin – màu nâu sẫm đến xám đậm
- Nền – màu xanh lục

Hiệu quả phân tích

Các Bộ dụng cụ Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính của Leica Biosystems không được dùng để phát hiện một chất phân tích hoặc chất đánh dấu cụ thể. Những sản phẩm này được sử dụng để biểu hiện nấm hoặc các tác nhân lây nhiễm đã định như các loài *Aspergillus, Pneumocystis carinii và Cryptococcus neoformans* trong các lát cắt mô nhúng parafin đã được cố định bằng formalin. Các thông số phân tích như độ nhạy phân tích, độ đặc hiệu phân tích, độ đúng (sai lệch), độ chụm (độ lặp lại và độ tái lập), độ chính xác (kết quả từ độ đúng và độ chụm), giới hạn phát hiện và định lượng, phạm vi đo, độ tuyến tính, giới hạn, bao gồm việc xác định các tiêu chí phù hợp để thu thập mẫu và xử lý cũng như kiểm soát nhiễu nội sinh và ngoại sinh liên quan đã biết, phản ứng chéo không áp dụng cho hiệu quả của hệ thống này.

Hiệu quả lâm sàng

Các Bộ dụng cụ Thuốc nhuộm bạc Grocott’s Methenamine biến tính của Leica Biosystems không được sử dụng như một phương pháp để phát hiện một bệnh hoặc quá trình hoặc trạng thái bệnh lý cụ thể. Các chỉ số hiệu quả lâm sàng như độ nhạy chẩn đoán, độ đặc hiệu chẩn đoán, giá trị dự đoán dương, giá trị dự đoán âm, tỷ số khả dĩ cũng như các giá trị dự kiến ở quần thể thông thường và bị ảnh hưởng không áp dụng cho việc sử dụng Chất hồ lơ của Leica Biosystems trong môi trường lâm sàng.

Thải bỏ

Phải thải bỏ các thành phần đã sử dụng hoặc hết hạn của Bộ dụng cụ nhuộm đặc biệt GMS theo quy định của tổ chức, địa phương, tiểu bang và liên bang.