

1.00820.0001

## Mikroskopie

# Souprava pro methenaminové stříbření dle Gomoriho

určená k detekci struktur s afinitou vůči stříbru v histologické tkáni

Pouze pro profesionální použití



Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro



### Zamýšlený účel

Tato „Souprava pro methenaminové stříbření dle Gomoriho – určená k detekci struktur s afinitou vůči stříbru v histologické tkáni“ se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému vyšetření vzorků lidského původu. Jedná se o barvicí soupravu, kterou lze použít v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku in vitro z našeho portfolia k hodnocení cílových struktur (prostřednictvím fixace, zalití, barvení, dobarvení, montování) v materiálech histologických vzorků, například v histologických řezech ledviny, střeva nebo jater, pro diagnostické účely.

Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovanému výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímků získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy mohou být nutná další vyšetření.

### Princip

Reakce PAS (Periodic Acid Schiff) se často používá k vizualizaci bazálních membrán, fungálních prvků nebo dalších argentačních struktur v tkáni. Methenaminové stříbření dle Gomoriho však vede k lepší vizualizaci těchto cílových struktur s vyšším kontrastem.

V prvním kroku stříbření oxiduje kyselina jodistá 1,2-glykoly ve tkáni na aldehydy. Vzhledem k inkubaci s roztokem methenamin borátu v dusičnanu stříbrném jsou tyto aldehydy redukovány a vedou následně k redukci stříbrných iontů na kovové stříbro.

Toto stříbro způsobuje černé zbarvení.

Následné ošetření tkáně chloridem zlata zvyšuje intenzitu barvení struktur s afinitou vůči stříbru a současně snižuje barvení pozadí. Promytí roztokem thiosíranu sodného vede k odstranění přebytečných komplexů stříbra a zlata. Tímto způsobem budou cílové struktury vykazovat tmavě hnědé až černé zbarvení a všechny ostatní struktury se dobarví světle zeleným SF.

### Materiál vzorku

Výchozím materiálem jsou tkáňové řezy zalité v parafinu (3–5 µm silné parafinové řezy).

### Činidla

Kat. č. 1.00820.0001 Souprava pro methenaminové stříbření dle Gomoriho  
určená k detekci struktur s afinitou vůči stříbru v histologické tkáni

### Složky balení:

Obsah barvicí soupravy

Činidlo 1:	Roztok kyseliny jodisté	100 ml
Činidlo 2:	Roztok dusičnanu stříbrného	3 x 100 ml
Činidlo 3:	Tablety methenamin borátu	10 ks
Činidlo 4:	Roztok chloridu zlata	100 ml
Činidlo 5:	Roztok thiosíranu sodného	100 ml
Činidlo 6:	Světle zelený roztok SF	100 ml

### Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie. Všechny vzorky musejí být jasně označené.

K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje. Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Řezy zbavte parafínu a rehydratujte obvyklým způsobem.

### Příprava činidla

#### Příprava roztoku methenamin borátu v dusičnanu stříbrném

**Používejte pouze čerstvě připravené roztoky.**

Rozpusťte 1 tabletu methenamin borátu (činidlo 3) ve 30 ml roztoku dusičnanu stříbrného (činidlo 2) při pokojové teplotě.

Tabletu zcela rozpusťte v roztoku dusičnanu stříbrného.

Roztok je nyní připraven k použití.

Reakce začne pouze po dosažení teploty 55 až 57 °C ve vodní lázni. Roztok je však třeba použít **okamžitě** a následně zlikvidovat.

**Důležité:** K přípravě roztoku dusičnanu stříbrného / methenamin borátu používejte pouze čisté skleněné a plastové nádoby. Zabraňte kontaktu roztoku dusičnanu stříbrného / methenamin borátu s kovovými předměty (např. spony držáku sklíčka).

### Postup

#### Barvení v barvicí komůrce

Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Nepoužívejte kovové pinzety a dávejte pozor, aby se jiné kovové předměty nedostaly do kontaktu se sklíčky.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

Sklíčka s histologickým vzorkem	
Destilovaná voda	2 min
Činidlo 1 (roztok kyseliny jodisté)	10 min
Destilovaná voda	cca. 30 s
Destilovaná voda	cca. 30 s
Destilovaná voda	cca. 30 s
Čerstvě připravený roztok dusičnanu stříbrného / methenamin borátu při teplotě 55–57 °C*	35–45 min
Destilovaná voda	cca. 30 s
Destilovaná voda	cca. 30 s
Destilovaná voda	cca. 30 s
Činidlo 4: (Roztok chloridu zlata)	1 min
Destilovaná voda	cca. 30 s
Činidlo 5 (Roztok thiosíranu sodného)	2 min
Tekoucí vodovodní voda	3 min
Destilovaná voda	cca. 30 s
Činidlo 6 (Světle zelený roztok SF)	2–3 min
Destilovaná voda	cca. 30 s
Ethanol 70 %	1 min
Ethanol 96 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Ethanol 100 %	1 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Xylen nebo Neo-Clear®	5 min
Vlhká sklíčka Neo-Clear® montujte za použití přípravku Neo-Mount®, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan® nový a krycího sklíčka.	

\* Vložte roztok dusičnanu stříbrného / methenamin borátu spolu se vzorkem určeným k barvení do vodní lázně předem zahřáté na 55 až 57 °C. Tuto teplotu udržujte po celou dobu barvicího procesu a barvěte po dobu 35 až 45 minut až do dosažení požadované intenzity.

Po odvodnění (vzestupnou alkoholovou řadou) a projasnění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear® lze histologické preparáty zakrýt nevodným montážním médiem (např. Entellan® nový, Neo-Mount®) a krycím sklíčkem a následně uskladnit.

Při analýze obarvených preparátů pod mikroskopem při více než 40násobném zvětšení se doporučuje používat imerzní olej.

### Výsledek

Fungální prvky	tmavě hnědé až černé
Bazální membrány	tmavě hnědé až černé
Pozadí	zelené

## Odstraňování potíží

Techniky barvení stříbrem mohou být náročné a vyžadovat speciální péči během postupu.

## Slabé obarvení nebo obarvení s minimálním kontrastem

Barvu deposit stříbra lze zesílit nanesením roztoku chloridu zlata. Vzniklý komplex stříbra a zlata minimalizuje nespecifické barvení pozadí. Přebytečný dusičnan stříbrný se vymyje roztokem thiosíranu sodného.

## Dobarvení

Dobarvení světla zelenou je volitelné. Buněčná matrix obklopující stříbrem obarvené struktury však bude vizualizována jednoznačněji a bude zjevnější, což usnadňuje diagnostiku.

## Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře. Při používání histoprocetorů nebo automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru. Před uložením odstraňte přebytek imerzního oleje.

## Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaný a kvalifikovaný personál.

Je nutné používat platné nomenklatury.

Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.

Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznávaných metod.

Při každé aplikaci použijte vhodné kontroly (např. ISOSLIDE® Methenamin, kat. č. 1.02473.0001), předejete tak nesprávným výsledkům.#

## Skladování

Soupravu pro methenaminové stříbření dle Gomoriho – určenou k detekci struktur s afinitou vůči stříbru v histologické tkáni skladujte při teplotě +15 až +25 °C.#

## Doba použitelnosti

Soupravu pro methenaminové stříbření dle Gomoriho – určenou k detekci struktur s afinitou vůči stříbru v histologické tkáni lze používat až do uvedeného data použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 až +25 °C.

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřeny.

Roztok dusičnanu stříbrného / methenamin borátu použijte **ihned** a poté jej můžete zlikvidovat.

## Kapacita

Obsah balení postačuje pro 50 aplikací.

## Další pokyny

### Pouze pro profesionální použití.

Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.

Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.

Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

## Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnice.

## Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnice týkajícími se likvidace.

Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnice. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese [www.microscopy-products.com](http://www.microscopy-products.com). V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

## Pomocná činidla

Kat. č. 100579	DPX nový bezvodé montovací médium pro mikroskopii	500 ml
Kat. č. 100974	Ethanol denaturovaný cca 1 % methylethylketonem pro analýzu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. č. 102473	ISOSLIDE® Methenamin Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci struktur s afinitou k stříbru v histologické tkáni	25 testů

Kat. č. 103699	Imerzní olej Type N podle ISO 8036 pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička
Kat. č. 104699	Imerzní olej pro mikroskopii	100ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml
Kat. č. 107161	Entellan® nový rychlé zalévací médium pro mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. č. 108298	Xylen (isomerická směs) pro histologii	4 l
Kat. č. 109016	Neo-Mount® bezvodé montovací médium pro mikroskopii	100 ml kapací lahvička, 500 ml
Kat. č. 109843	Neo-Clear® (náhražka xyleny) pro mikroskopii	5 l

## Klasifikace rizik

Kat. č. 1.00820.0001

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.

Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání. POZOR! Obsahuje látky karcinogenní, mutagenní a/nebo toxické pro reprodukci. Dodržujte příslušné bezpečnostní pokyny v bezpečnostním listu.

## Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.00820.0001

Činidlo 1	
H <sub>2</sub> IO <sub>6</sub>	10 g/l
1 l = 1,0 kg	
Činidlo 2	
AgNO <sub>3</sub>	2,5 g/l
1 l = 1,0 kg	
Činidlo 3	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 10 H <sub>2</sub> O	23,8 g/l
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub>	71,40 g/l
Činidlo 4	
AuCl <sub>3</sub>	1 g/l
1 l = 1,0 kg	
Činidlo 5	
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	20 g/l
1 l = 1,01 kg	
Činidlo 6	
C.I. 42095	5 g/l
CH <sub>3</sub> COOH	2,1 g/l
1 l = 1,0 kg	

## Jiné výrobky pro IVD

Kat. č. 100361	ISOSLIDE® Retikulín Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci retikulárních vláken v histologii	25 testů
Kat. č. 100380	ISOSLIDE® Železo Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci volného železa v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 100408	ISOSLIDE® PAS Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci polysacharidů v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 100425	ISOSLIDE® Alcianová modř, pH 2,5 Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci kyselých mukosubstancí v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 102472	ISOSLIDE® Warthin-Starry Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci bakterie Helicobacter pylori a spirochet v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 102560	ISOSLIDE® AFB Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci acidorezistentních bakterie v histologické tkáni	25 testů
Kat. č. 102561	ISOSLIDE® Konžskou červení Kontrolní sklíčka s referenční tkání pro detekci amyloidových struktur v histologické tkáni	25 testů

## Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

## Literaturu

1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
3. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
4. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
5. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
6. Histological & Histochemical Methods: Theory & Practice, J. A. Kiernan, 1990, Pergamon Press, 2nd Edition
7. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



Viz návod k použití



Výrobce



Katalogové číslo



Kód šarže



Pozor, přečtěte si  
příložené dokumenty



Spotřebujte do  
RRRR-MM-DD



Teplotní  
omezení

Status: 2021-Jan-18

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,  
Tel. +49(0)6151 72-2440  
[www.microscopy-products.com](http://www.microscopy-products.com)

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive  
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321  
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.  
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8  
Phone: +1 800-565-1400

