

1.02414.0001

Mikroskopiju

Warthin-Starry srebro plating kit modificiran

za detekciju *Helicobacter pylori* i spiroheta u parafinskim sekcijama

Samo za profesionalnu uporabu



In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Namjena

Ovaj "Warthin-Starry srebro plating kit modificiran - za detekciju *Helicobacter pylori* i spiroheta u parafinskim sekcijama" - koristi se za dijagnozu ljudskih stanica te služi u histološkim ispitivanjima materijala uzorka ljudskog podrijetla. To je otopina za bojenje spremna za uporabu zahvaljujući kojoj je, kada se upotrebljava s drugim in vitro dijagnostičkim proizvodima iz naše ponude, moguće procijeniti ciljne strukture (fiksiranjem, uklapanjem, bojenjem, protuboženjem, poklapanjem) u ljudskim histološkim uzorcima, primjerice histološke sekcije npr. crijeva ili želuca, u dijagnostičke svrhe.

Warthin-Starry komplet za oblaganje srebrom, modificiran koristi se za specifičnu za detekciju bakterije *Helicobacter pylori* i spiroheta u histološkim uzorcima koristeći Hellendahlove ćelije od 60 ml.

Neobojene strukture imaju relativno niski kontrast i iznimno ih je teško razlikovati pod svjetlosnim mikroskopom. Slike dobivene uz primjenu otopina za bojenje ovlaštenom i kvalificiranom ispitivaču pomažu da u takvim slučajevima bolje definira oblik i strukturu. Možda će biti potrebni dodatni pregledi za postavljanje konačne dijagnoze.

Princip

Kada koristite Warthin-Starry oblaganje srebrom, srebro nitrat je reduciran na metalno srebro uz pomoć hidrokinona koji oskudara do kinona, a razvoj srebra je zaustavljen korakom pranja vodom.

Proizvedeno srebro može se i fiksirati i stabilizirati u dodatnom koraku koristeći otopinu natrijev tiosulfata.

Kada se koristi natrijev tiosulfat, stakalca se mogu naknadno prekriti pokrovnim stakalcem s bilo kojim medijem za pokrivanje koji sadrži ksilen. U slučaju da se ova dodatna kupelj za bojanje dispergira s, uzorke treba poklopiti s Novi DPX medijem ili Neo-Mount®-om kako bi se spriječilo izbjeljivanje i održala stabilnost boje mrlje.

Reakcijska otopina je modificiran na takav način da se metalno srebro taloži u ciljnim strukturama u specifičnoj reakciji; Warthin-Starry srebro plating kit modificiran za sebrne taloge na površinama bakterija vrsta *Helicobacter* te familije spiroheta. Na mikroskopskoj slici, bakterije će izgledati tamnosmeđe do crne.

Bakterije će se detektirati u npr. mulju površinskog epitela, u apikalnim žlijezdama želuca i foveolama sluznice želuca.

Uzorak

Početni materijali jesu presjeci tkiva fiksirani u formalinu i uklopljeni u parafin (parafinski presjeci debljine 3 – 5 µm).

Reagensi

Kat. br. 1.02414.0001 Warthin-Starry srebro plating kit modificiran za detekciju *Helicobacter pylori* i spiroheta u parafinskim sekcijama

Komponente pakiranja:

Komplet za bojenje sadrži

Reagens 1: otopina srebro nitrata 6 %	500 ml
Reagens 2: smjesa hidrokinona	2 x 14 g
Reagens 3: prah želatine	130 g
Reagens 4: otopina octene kiseline 1,2 %	60 ml
1 crvena žlica za doziranje	
1 narančasto obojena mikrožličica (u čepu bočice s reagensom 2)	
1 pipeta	

Note: Sadržaji reagensa 2 i 4 ne odgovaraju aktualnoj uporabi; ostatak ostaje u bočici kao rezerva.

Također potrebno:

Kat. br. 100579 Novi DPX nevodeni medij za poklapanje za mikroskopiju (za uporabu bez otopine natrijeva tiosulfata) 500 ml

ili alternativno

Kat. br. 109147 Natrij-tiosulfat otopina c(Na₂S₂O₃ 5 H₂O) = 0,1 mol/l (0,1 N) Titripur® Reag. Ph Eur, Reag. USP (za poklapanje s drugim medijem za poklapanje koji sadrži ksilen)

1 l, 4 l
Titripac®, 10 l
Titripac®

Vodena kupelj
Plastična špatula

Priprema uzorka

Uzorkovanje mora provoditi kvalificirano osoblje.

Svi uzorci moraju se obraditi vrhunskom tehnologijom.

Svi uzorci moraju se jasno označiti.

Prilikom uzimanja uzoraka i njihove pripreme moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za primjenu/upotrebu.

Kada upotrebljavate odgovarajuće pomoćne reagensne, treba se pridržavati njihovih uputa za uporabu.

Uklonite parafin i rehidrirajte sekcije na uobičajen način.

Priprema reagensa

Važno: Za pripremu otopina, koristite samo čiste staklene i plastične spremnike.

Izbjegavajte doticaj s otopinama metala (npr. s držačem stakalca ili pincetama).

S obzirom da je srebro plating reakcija termoosjetljiva, vodena kupelja prethodno se zagrijava do 60 °C.

Kako biste spriječili pucanje Hellendahlovih ćelija, one se također predgriju u vodenoj kupelji.

Temperatura reagensa u vodenoj kupelji prati se uporabom termometra u Hellendahlovoj ćeliji od 60 ml napunjenoj destiliranom vodom.

Destilirana voda

Prethodno zagrijte Hellendahlove ćelije od 60 ml ispunjene destiliranom vodom u vodenoj kupelji na temperaturu od 60 °C.

Oni su potrebni za korake ispiranja i mogu se također koristiti za praćenje temperature.

Octena voda (reagens 4a)

Pomiješajte 1 l destilirane vode s 10 ml 1,2 %-tne acetatne kiseline (reagens 4).

Temeljna standardna otopina pripremljena na ovoj način stabilna je tijekom maksimalnog razdoblja od 3 tjedna.

Otopina za impregniranje (reagens 1a)

Za pripremu pribl. 60 ml ove otopine, položite sljedeće tvari u prethodno zagrijanu Hellendahlovu ćeliju od 60 ml i temeljito promiješajte plastičnom špatulom.

Reagens 4a (octena voda)	50 ml
Reagens 1 (otopina srebro nitrata 6 %)	10 ml

Postavite pokrivenu otopinu u vodenu kupelj od 60 °C u isto vrijeme kao i otopinu želatine (reagens 3a) i zagrijte.

Pratite temperaturu (navedena temperatura: 60 °C).

Otopina želatine (reagens 3a)

Za pripremu pribl. 60 ml ove otopine, položite sljedeće tvari u prethodno zagrijanu Hellendahlovu ćeliju od 60 ml i temeljito promiješajte plastičnom špatulom.

Reagens 4a (octena voda)	60 ml
Reagens 3 (prah želatine)	2 crvene žlice za doziranje

Postavite pokrivenu otopinu u vodenu kupelj od 60 °C u isto vrijeme kao i otopinu za impregniranje (reagens 3a) i zagrijte.

Pratite temperaturu (navedena temperatura: 60 °C).

Otopina razvijaa (reagens 2a)

S obzirom da reakcija razvijaa počinje odmah, otopinu treba pripremiti samo neposredno prije inkubacije stakalca u ovoj otopini.

Tijekom koraka ispiranja (vidjeti "Postupak", korak 3) položite sljedeće tvari u prethodno zagrijanu Hellendahlovu ćeliju od 60 ml i temeljito promiješajte plastičnom špatulom:

Reagens 3a (otopina želatine)	ukupna količina u Hellendahlovoj čeliji od 60 ml
Reagens 2 (smjesa hidrokinona)	2 narančasto obojene mikrožlice (u čepu bočice s reagensom)

Kratko prije uranjanja stakalca (vidjeti "Postupak" - koraci 3 i 4), dodajte sljedeće tvari u otopinu:

Reagens 1a (otopina za impregniranje)	3 ml (s priloženom pipetom)
---------------------------------------	-----------------------------

te promiješajte temeljito u Hellendahlovoj čeliji od 60 ml plastičnom špatulom. Otopina razvijaača, još uvijek pri temperaturi od 60 °C, sada je **spremna za neposrednu** uporabu. Stakalca treba **odmah** uroniti u ovu otopinu (vidjeti "Postupak", korak 4) ali inkubacija se međutim može dogoditi izvan vodene kupelji od 60 °C.

Napomena: radne otopine (otopine za impregnaciju, otopine želatine i otopine razvijaača) mogu se koristiti samo za jedan eksperiment i moraju se kasnije pravilno zbrinuti.

Postupak

Primjena traje u Hellendahlovoj čeliji od 60 ml.

Uklonite parafin s histoloških stakalaca na uobičajen način i rehidrirajte silaznim nizom alkohola.

Nemojte koristiti metalnu pincetu i nemojte dopustiti da nikakvi drugi srebrni predmeti dođu u doticaj sa stakalcima.

Potrebno je pridržavati se navedenih vremena za optimalne rezultate bojenja.

bez otopine natrijeva tiosulfata

Stakalce sa sekcijom parafina			
1	Destilirana voda		10 s
2	Reagens 1a (otopina za impregniranje)	na 60 °C	30 min
3	jaki mlaz vode iz slavine		ispirite temeljito tijekom 5 minuta
4	Reagens 2a (otopina razvijaača)	na 60 °C	30 - 120 s (vizualnom procjenom)
5	Destilirana voda (prethodno grijana)	na 60 °C	10 s
6	Destilirana voda (prethodno grijana)	na 60 °C	2 min
	Etanol 70 %		30 s
	Etanol 70 %		30 s
	Etanol 96 %		30 s
	Etanol 96 %		30 s
	Etanol 100 %		30 s
	Etanol 100 %		2 min
	Ksilen ili Neo-Clear®		5 min
	Ksilen ili Neo-Clear®		5 min
Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear® poklopite otopinom Neo-Mount® ili mokra stakalca s ksilenom npr. Novi DPX i staklenim pokrovom.			

s otopinom natrijeva tiosulfita

Stakalce sa sekcijom parafina			
1	Destilirana voda		10 s
2	Reagens 1a (otopina za impregniranje)	na 60 °C	30 min
3	jaki mlaz vode iz slavine		ispirite temeljito tijekom 5 minuta
4	Reagens 2a (otopina razvijaača)	na 60 °C	30 - 120 s (vizualnom procjenom)
5	Destilirana voda (prethodno grijana)	na 60 °C	10 s
6	Destilirana voda (prethodno grijana)	na 60 °C	2 min
7	Natrij-tiosulfat otopina		3 min
8	Destilirana voda		10 s
	Etanol 70 %		30 s
	Etanol 70 %		30 s
	Etanol 96 %		30 s
	Etanol 96 %		30 s
	Etanol 100 %		30 s

	Etanol 100 %		2 min
	Ksilen ili Neo-Clear®		5 min
	Ksilen ili Neo-Clear®		5 min
Mokra stakalca s otopinom Neo-Clear® poklopite otopinom Neo-Mount® ili mokra stakalca s ksilenom npr. Novi Entellan® i staklenim pokrovom.			

Nakon dehidracije (uzlazni niz alkohola) i razbistrivanja ksilenom ili otopinom Neo-Clear®, histološka stakalca mogu se pokriti bilo kojim agensima za poklapanje bez vode (npr. Novi Entellan® ili Neo-Mount®) i staklenim pokrovom te se zatim mogu pohraniti kada se formirano srebro fiksira i stabilizira otopinom natrijeva tiosulfata u dodatnom koraku inkubacije.

Uzorci se mogu i poklopiti s Novi DPX-om ili Neo-Mount-om® bez fiksacije natrijevim tiosulfatom.

Upotreba imerzijskog ulja preporučuje se za analizu obojanih stakalaca s pomoću mikroskopskog povećanja > 40x.

Rezultat

bez otopine natrijeva tiosulfata

Helicobacter pylori	tamnosmeđa do crna
Spirohete	tamnosmeđa do crna
Pozadina	žuta do zlatno-smeđa

s otopinom natrijeva tiosulfita

Helicobacter pylori	tamnosmeđa do crna
Spirohete	tamnosmeđa do crna
Pozadina	smečkasta

Otklanjanje poteškoća

Tehnike srebrnog bojanja mogu biti teške i zahtijevaju posebnu skrb tijekom postupka.

Nejasno pozadinsko bojanje stakalca

U slučaju da se staklo stakalca čini kontaminiranim, to je stoga jer se srebro nataložilo na staklenu površinu i nije u potpunosti uklonjeno u koraku ispiranja (vidjeti "Postupak", korak 3).

Zato moramo paziti da intenzivno isperemo stakalce vodom iz slavine tijekom 5 minuta.

Izbjeljivanje uzoraka

Srebrom obložene strukture mogu se postupno izbjeliti u slučaju da su poklopljene lažnim medijem za poklapanjem.

Zato treba paziti da se pridržavate uputa opisanih u specifikaciji u vezi kompatibilnosti sredstava za poklapanje koji sadrže ksilen s ili bez fiksacije natrijevim tiosulfatom.

Prebojavanje uzoraka

U slučaju da srebrom obložene strukture čine pretamnima te su prebojane na mikroskopskoj slici, vrijeme inkubacije u reagensu 2a (otopina razvijaača) treba se skratiti. Navedeno vrijeme (30 do 120 sek., vidjeti korak "Postupak", korak 4) treba shvatiti kao grubi vodič i stoga se na njega može utjecati npr. debljinom sekcije uzorka.

Bojenje preslabo

- Srebro plating reakcija je termoosjetljiva te je treba provesti u vodenoj kupelji na 60 °C. Preniske temperature uzrokovati će lošije rezultate. Treba također imati na umu da temperaturni indikator na vodenoj kupelji u mnogim slučajevima nije dovoljno točan. Temperatura reagensa u vodenoj kupelji treba stoga pomno pratiti uporabom termometra u Hellendahlovoj čeliji od 60 ml napunjenoj destiliranom vodom. **(Nemojte mjeriti temperaturu izravno u otopinama za impregniranje/želatine/razvijaača!)**
- Korake ispiranja s destiliranom vodom (vidjeti "Postupak", koraci 5 i 6) treba provesti koristeći destiliranom vodom zagrijanom na 60 °C jer će se inače želatina sadržana u reagensu 2a (otopina razvijaača) stvrdnuti na uzorku i može imati negativan utjecaj na posljedični proces dehidracije.

Tehničke napomene

Upotrebjavani mikroskop mora zadovoljavati preduvjete medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Prilikom upotrebe histoprocera i automatske opreme za bojenje slijedite upute za uporabu dobavljača sustava i softvera.

Prije punjenja uklonite suvišno imerzijsko ulje.

Dijagnostika

Dijagnoze smije donositi jedino ovlašteno i kvalificirano osoblje.

Potrebno je upotrebljavati valjanu nomenklaturu.

Ova se metoda može koristiti kao dopuna u dijagnostici na ljudima.

Potrebno je odabrati i implementirati dodatne testove sukladno prepoznatim metodama.

Treba provesti odgovarajuće kontrole (npr. ISOSLIDE® Warthin-Starry, kat. br. 1.02472.0001) prilikom svake primjene da bi se izbjegli neispravni rezultati.

Skладиštenje

Pohranite Warthin-Starry srebro plating kit modificiran - za detekciju Helicobacter pylori i spiroheta u parafinskim sekcijama na temperaturi od + 15 °C do +25 °C.

Rok uporabe

Warthin-Starry srebro plating kit modificiran - za detekciju *Helicobacter pylori* i spiroheta u parafinskim sekcijama može se koristiti do navedenog datuma isteka roka valjanosti.

Nakon prvog otvaranja boce, sadržaj se može upotrebljavati do navedenog roka uporabe ako je pohranjen na +15 °C do +25 °C.

Boce moraju biti čvrsto zatvorene u svakom trenutku.

Radne otopine (otopine za impregnaciju, otopine želatine i otopine razvijачa) mogu se koristiti samo za jedan eksperiment i moraju se kasnije pravilno zbrinuti.

Reagens 4a (octena voda) stabilna je tijekom maksimalnog razdoblja od 3 tjedna.

Kapacitet

Pakiranje je dostatno za do 500 primjena.

Dodatne upute

Samo za profesionalnu uporabu.

Da bi se izbjegle pogreške, primjenu smije provoditi samo kvalificirano osoblje.

Potrebno je slijediti nacionalne smjernice za sigurnost na radu i osiguravanje kvalitete.

Potrebno je upotrebljavati mikroskope opremljene sukladno standardu.

Zaštita od infekcije

Potrebno je poduzeti učinkovite mjere za zaštitu od infekcije sukladno smjernicama laboratorija.

Upute za odlaganje

Pakiranje se mora odložiti sukladno trenutnim smjernicama za odlaganje. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok uporabe moraju se odložiti kao poseban otpad sukladno lokalnim smjernicama. Informacije o odlaganju možete dobiti na brznoj poveznici „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Savjeti za odlaganje mikroskopskih proizvoda) na adresi www.microscopy-products.com. Unutar EU-a primjenjuje se trenutna primjenjiva UREDBA (EZ) br. 1272/2008 o razvrstavanju, označavanju i pakiranju tvari i smjesa, o izmjeni i stavljanju izvan snage Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ i o izmjeni Uredbe (EZ) br. 1907/2006.

Pomoćni reagensi

Kat. br. 100496	Otopina formaldehida 4 %-tna, puferirana, pH 6,9 (oko 10 %-tna otopina formalina) za histologiju	350 ml i 700 ml (u boci širokog grla), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Kat. br. 100579	Novi DPX nevodeni medij za poklapanje za mikroskopiju	500 ml
Kat. br. 100974	Etanol denaturiran s oko 1 % metil-etil-ketona za analizu EMSURE®	1 l, 2,5 l
Kat. br. 102472	ISOSLIDE® Warthin-Starryjeva kontrolna stakalca s referentnim tkivima za otkrivanje <i>Helicobacter pylori</i> i spiroheta u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 103699	Imerziono ulje Type N prema normi ISO 8036 za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml
Kat. br. 103999	Otopina formaldehida od min. 37 % bez kiselina stabilizirane s oko 10 % metanola i kalcijeva karbonata za histologiju	1 l, 2,5 l, 25 l
Kat. br. 104699	Imerzijsko ulje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 100 ml, 500 ml
Kat. br. 107164	Parafin pastile točka skrućivanja oko 56-58 °C za histologiju	10 kg (4 x 2,5 kg)

Kat. br. 107961	Novi Entellan® brzi medij za uklađanje za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l
Kat. br. 108298	Ksilen (izomerna smjesa) za histologiju	4 l
Kat. br. 109016	Neo-Mount® bezvodni medij za poklapanje za mikroskopiju	Boca kapaljka od 100 ml, 500 ml
Kat. br. 109147	Natrij-tiosulfat otopina c(Na ₂ S ₃ O ₃ 5 H ₂ O) = 0,1 mol/l (0,1 N) Titripur® Reag. Ph Eur, Reag. USP	1 l, 4 l Titripac®, 10 l Titripac®
Kat. br. 109843	Neo-Clear® (zamjena za ksilen) za mikroskopiju	5 l
Kat. br. 111609	Histosec® pastile točke skrućivanja 56-58 °C, agens za uklađanje za histologiju	1 kg, 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg
Kat. br. 115161	Histosec® pastile (bez DMSO-a) točke skrućivanja 56-58 °C, agens za uklađanje za histologiju	10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg

Klasifikacija rizika

Kat. br. 1.02414.0001

Slijedite klasifikaciju rizika ispisanu na oznaci i informacije navedene na sigurnosno-tehničkom listu.

Sigurnosno-tehnički list dostupan je na web-mjestu i na zahtjev.

OPREZ! Sadržava CMR tvari. Pridržavajte se odgovarajućih uputa vezanih uz sigurnost navedenih u sigurnosno-tehničkom listu.

Glavne komponente proizvoda

Kat. br. 1.02414.0001

Reagens 1	
AgNO ₃	60 g/l
1 l = 1,05 kg	
Reagens 2	
C ₆ H ₆ O ₂	42,7 masenog postotka
Reagens 3	
Želatina	100,0 masenog postotka
Reagens 4	
C ₂ H ₄ O ₂	~12,6 g/l
1 l = 1,0 kg	

Drugi IVD proizvodi

Kat. br. 100361	ISOSLIDE® Retikulin kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju retikularnih vlakana u histologiji	25 testova
Kat. br. 100380	ISOSLIDE® Željezo kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju slobodnog željeza u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 100408	ISOSLIDE® PAS kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju polisaharida u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 100425	ISOSLIDE® Alcian plava, pH 2,5 kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju kiselih mukosupstanci u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 102439	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s alkoholom za mikroskopiju	500 ml, 2,5 l
Kat. br. 102473	ISOSLIDE® Metenaminska kontrolna stakalca s referentnim tkivima za otkrivanje argentafinih struktura u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 102560	ISOSLIDE® AFB kontrolna stakalca s referentnim tkivima za detekciju acidorezistentnih bakterije u histološkom tkivu	25 testova

Kat. br. 102561	ISOSLIDE® Kongo crveno kontrolna stakalaca s referentnim tkivima za detekciju amiloidnih struktura u histološkom tkivu	25 testova
Kat. br. 105174	Otopina hematoksilina promijenjena prema Gillu III za mikroskopiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 109149	Mayerova hemalum otopina za mikroskopiju	500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 109204	Eozin metilenska azurno plava otopina Giemsa za mikroskopiju	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Kat. br. 109844	Otopina eozin Y boje od 0,5 %, s vodom za mikroskopiju	1 l, 2,5 l

Opća napomena

Ako se tijekom uporabe ovog uređaja ili zbog njegove uporabe dogodi ozbiljan štetni događaj, prijavite ga proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom zastupniku te nacionalnom nadležnom tijelu.

Književnost

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 and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition



Pročitajte upute za uporabu



Proizvođač



Kataloški broj



Kod serije



Oprez, pročitajte popratnu dokumentaciju



Upotrijebite do GGGG-MM-DD



Ograničenje temperature

Status: 2021-Jan-18

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
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

