

Sigma-Aldrich®

Instructions for Use

Silver Stain (Modified GMS) Kit

Procedure No. HT100



Intended Use

The Silver Stain (Modified GMS) kit is intended for use in the histologic demonstration of fungi, basement membrane and some opportunistic organisms. The Silver Stain (Modified GMS) Kit is for "In Vitro Diagnostic Use." For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure identifies fungi, basement membrane and some opportunistic organisms in tissue samples of human specimens. This data when reviewed in conjunction with other diagnostic tests and information may be used as an aid to diagnosis of fungal infections.

Silver methenamine-borate procedures are well documented.^{1,2} Generally, these require elaborate solution preparation prior to test performance. Solution stability is limited and results vary remarkably due to the capricious nature of metal impregnation and photographic development.

The Silver Stain (Modified GMS) Kit incorporates a stable working silver methenamine salt along with buffer, toning reagent, and developer. This provides the laboratory a unique package for visualizing fungi, basement membrane and opportunistic organisms.³⁻⁵ Included is an application for rapid staining using a microwave oven.^{3,6}

In brief, microbial cell wall and basement membrane polysaccharides are oxidized to aldehydes by treatment with periodic acid. The aldehyde group, at alkaline pH, reduces silver ion to metallic silver. Rinsing with gold salts forms a more stable gold complex and excess silver is removed by a thiosulfate wash.

Reagents

Periodic Acid Solution (Cat. No. HT1001-100ML)

Periodic acid, 1 g/dL, in deionized water

Borax Solution (Cat. No. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dL, in deionized water. Danger. Causes severe skin burns and eye damage. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

Silver Methenamine (Cat. No. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Silver methenamine, 110 mg/vial. Danger. Harmful if swallowed. Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. Suspected of causing cancer.

Gold Chloride Solution (Cat. No. HT1004-100ML)

Gold chloride, 200 mg/dL, in deionized water.

Sodium Thiosulfate Solution (Cat. No. HT1005-100ML)

Sodium thiosulfate, 2 g/dL, in deionized water.

Special Materials Required but Not Provided

- Plastic forceps or paraffin coated metal forceps.
- Positive control slides, such as Fungi TISSUE-TROL™ (Cat. No. TTR004) should be included in each run.

Counterstains (optional)

(choice depends on specimen and individual preferences)

- Tartrazine Solution, Cat. No. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hematoxylin Solution, Cat. No. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, Cat. No. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y Solution, Aqueous, Cat. No. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, With Phloxine, Cat. No. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

For Standard Procedure Only:

- Water bath, 62°C

For Microwave Procedure Only:

- Plastic Coplin jars with lids
- Microwave Oven

Storage and Stability

Store Periodic Acid Solution, Working Silver Methenamine, Gold Chloride Solution, and Sodium Thiosulfate Solution refrigerated (2–8°C).

Store Borax Solution at room temperature (18–26°C). NOTE: Borax may form precipitate during refrigeration. Bring to room temperature and redissolve prior to use.

Reagent labels bear expiration date.

Preparation

Prepare Working Silver Methenamine Solution by combining 8 mL Borax Solution, 100 mL deionized water and contents of one Silver Methenamine vial. Mix until dissolved. Use once, then discard.

NOTE: Do not allow Working Silver Methenamine Solution to come into contact with metals.

NOTE: To increase tests per vial to two, Silver Methenamine may be dissolved in 100 mL of

deionized water and stored tightly capped. This solution is stable when refrigerated (2–8°C) for 1 month. When ready to use, take 50 mL of one Silver Methenamine Solution and add 4 mL of Borax Solution. Return unused portion of Silver Methenamine Solution to refrigerator.

Prewarm all reagents to room temperature before use.

Precautions

The IVDs included in this kit are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Fungi TISSUE-TROL™ control slides are paraffin embedded animal tissue containing fungi and should be considered potentially infectious.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Fungus and Opportunistic Organisms such as *P. carinii*

Fix in 10% neutral buffered formalin or Bouin's Solution, embed in paraffin and cut 5 micron sections.¹

Basement Membrane

Fix in 10% neutral buffered formalin, Bouin's or Zenker's Solution and cut paraffin sections 1–4 microns.¹

Notes

Staining dishes should be washed in Dishbrite liquid laboratory glassware cleaning concentrate, Cat. No. S4107, then bleach solution, rinsed well in tap water and then in at least 6 changes of deionized water.

If a microwave oven is used, please see the Owner's Manual for instructions.

Standard Procedure

1. Prepare Working Silver Methenamine Solution as described in "Preparation" section and place in 62°C water bath.
2. Deparaffinize tissue sections and rehydrate to deionized water.
3. Place rehydrated sections in Periodic Acid Solution for **5 minutes** for fungi and opportunistic organisms or **11 minutes** for basement membrane.
4. Remove slides and rinse in 6 changes of deionized water.
5. **For Demonstration of Fungi and Opportunistic Organisms**, place slides in prewarmed Working Silver Methenamine Solution. Examine microscopically after 20 minutes. Fungi and opportunistic organisms should be dark brown against a pale yellow background.
For Demonstration of Basement Membrane, place slides in prewarmed Working Silver Methenamine Solution. Examine microscopically after 30 minutes. Basement membrane should be black against a dark yellow-brown background.
NOTE: While incubating sections at 62°C, place a Coplin jar containing deionized water in 62°C water bath. Use this water for rinsing prior to evaluation in Step 5. Examine sections microscopically for adequate staining at stated intervals. Return slides to warm Working Silver Methenamine Solution until desired intensity is achieved.
6. Remove slides from Working Silver Methenamine Solution after adequate structural staining is achieved and rinse 6 times in room temperature deionized water.
7. Tone sections in Gold Chloride Solution for **30 seconds**.
8. Rinse in room temperature deionized water 6 times.
9. Place sections in Sodium Thiosulfate Solution for **2 minutes**.
10. Wash well in running tap water.
11. Counterstain according to personal preference with Tartrazine Solution, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris Hematoxylin Solution or Eosin Y Solution.
12. Dehydrate in alcohol, clear in xylene, mount and examine microscopically.

Microwave Procedure

1. Deparaffinize slides and hydrate to deionized water.
2. Place slides in **40 mL** of Periodic Acid Solution contained in a plastic Coplin jar. Loosely cover Coplin jar with lid before placing in microwave oven, or use Coplin jars with holes drilled into the lids. Microwave on **800 watts for 10 seconds**. ***Periodic Acid Solution may be reused if used at room temperature for **5 minutes** instead of microwaving. ***For basement membranes Periodic Acid Solution Incubation time is **11 minutes at room temperature**.
3. Remove slides from Periodic Acid Solution and rinse in 6 changes of deionized water.
4. Place slides in **40 mL** of Working Silver Methenamine Solution contained in a plastic Coplin jar.
5. **For Fungal Organisms** microwave on **600 watts for 35 seconds**. Gently mix solution with a beral pipette or applicator stick. Let incubate for **2–3 minutes**. After no longer than **2 to 3 minutes**, place slides in warm deionized water and check development microscopically. If organisms are not sufficiently developed, return slides to Working Silver Methenamine Solution and let sit for **30 seconds to 1 minute** or until desired tone is achieved.

For Basement Membrane microwave on **600 watts for 35 seconds**. Gently agitate solution. Let slides incubate for **5 minutes**. Microwave a second time at **600 watts for 10 seconds**. Let slides develop for **2 minutes**. Check slides microscopically. If slides are not sufficiently developed, repeat last step until desired tone is achieved.

6. Rinse slides in 6 changes of deionized water.
7. Tone slides in Gold Chloride Solution for **30 seconds at room temperature**.
8. Rinse slides in 6 changes of deionized water.
9. Place slides in Sodium Thiosulfate Solution for **2 minutes at room temperature**.
10. Wash well in running tap water.
11. Counterstain according to personal preference with Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Tartrazine Solution, or Harris Hematoxylin Solution, or Eosin Y Solution.
12. Dehydrate in alcohol, clear in xylene, mount and examine microscopically.

Performance Characteristics

Target Structure	Staining Result
Fungi	Purplish-brown to black
Opportunistic Organisms	Purplish-brown to black
Basement Membrane	Black
Background	Dependent upon counterstain

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
HT1001	Periodic Acid Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1002	Borax Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1003	Silver Methenamine	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1004	Gold Chloride Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
HT1005	Sodium Thiosulfate Solution	Fungal organisms	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

HT100A:



- H271: May cause fire or explosion; strong oxidizer.
- H302: Harmful if swallowed.
- H314: Causes severe skin burns and eye damage.
- H317: May cause an allergic skin reaction.
- H334 May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
- H351: Suspected of causing cancer.
- 360FD: May damage fertility. May damage the unborn child.
- H373: May cause damage to organs (Thyroid) through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects.
- P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P273: Avoid release to the environment.
- P280: Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P303 + P361 + P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer
	Indicates the Authorised Representative in Switzerland		

References

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986

- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Contact Information

To place an order, please visit our web site at [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revision History

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards section.
Rev. 7.0	2025
	Updated naming convention. Revised Intended Use statement. Removed references to specific organisms. Added CH-REP and importer information.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

The Initial M, TISSUE-TROL, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Gebrauchsanweisung

Silberfärbungs-Kit (modifiziertes GMS)

Verfahren Nr. HT100



Verwendungszweck

Das Silberfärbungs-Kit (modifiziertes GMS) ist zum histologischen Nachweis von Pilzen, Basalmembranen und einigen opportunistischen Organismen bestimmt. Das Silberfärbungs-Kit (modifiziertes GMS) ist „nur zur Verwendung als *In-vitro-Diagnostikum*“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen qualitativen Verfahren gewonnenen Daten dienen zur Identifizierung von Pilzen, Basalmembranen und opportunistischen Organismen in menschlichen Gewebeproben. Diese Daten können in Verbindung mit anderen diagnostischen Tests und Informationen als Hilfsmittel für die Diagnose von Pilzinfektionen verwendet werden.

Silbermethenamin-Borat-Verfahren sind gut dokumentiert.^{1,2} Im Allgemeinen erfordern diese Verfahren eine aufwendige Lösungsvorbereitung vor der Testdurchführung. Die Stabilität der Lösung ist begrenzt und die Ergebnisse schwanken aufgrund des unbeständigen Verhaltens der Metallimprägnierung und der fotografischen Entwicklung erheblich.

Das Silberfärbungs-Kit (modifiziertes GMS) enthält eine stabile Silbermethenamin-Gebrauchslösung zusammen mit Puffer, Färbereagenz und Entwickler. Damit erhalten Labors ein einzigartiges Paket zur Visualisierung von Pilzen, Basalmembranen und opportunistischen Organismen.³⁻⁵ Enthalten ist eine Anwendung zur schnellen Färbung im Mikrowellenofen.³⁻⁶

Kurz gesagt werden mikrobielle Zellwand- und Basalmembran-Polysaccharide durch Behandlung mit Periodsäure zu Aldehyden oxidiert. Bei einem alkalischen pH-Wert reduziert die Aldehydgruppe Silberionen zu metallischem Silber. Beim Spülen mit Goldsalzen bildet sich ein stabilerer Goldkomplex und überschüssiges Silber wird durch eine Thiosulfat-Wäsche entfernt.

Reagenzien

Periodsäure-Lösung (Art.-Nr. HT1001-100ML)
Periodsäure, 1 g/dl, in deionisiertem Wasser

Borax-Lösung (Art.-Nr. HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, in deionisiertem Wasser. Gefahr. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

Silbermethenamin (Art.-Nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Silbermethenamin, 110 mg/Fläschchen. Gefahr. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Kann vermutlich Krebs erzeugen.

Goldchlorid-Lösung (Art.-Nr. HT1004-100ML)
Goldchlorid, 200 mg/dl, in deionisiertem Wasser

Natriumthiosulfat-Lösung (Art.-Nr. HT1005-100ML)
Natriumthiosulfat, 2 g/dl, in deionisiertem Wasser

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Kunststoffpinzette oder paraffinbeschichtete Metallpinzette
- Objektträger zur Positivkontrolle, z. B. Fungi TISSUE-TROL™ (Art.-Nr. TTR004), sind bei jedem Verfahren einzusetzen.

Gegenfärbungen (optional)

(Die Wahl hängt von der Probe und den persönlichen Präferenzen ab.)

- Tartrazin-Lösung, Art.-Nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris-Hämatoxylin-Lösung, Art.-Nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, alkoholisch, Art.-Nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, wässrig, Art.-Nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin-Y-Lösung, alkoholisch, mit Phloxin, Art.-Nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Echtgrün FCF
- Lichtgrün SF gelblich

Nur für Standardverfahren:

- Wasserbad, 62 °C

Nur für Mikrowellenverfahren:

- Coplin-Färbetroge aus Kunststoff mit Deckeln
- Mikrowellenofen

Lagerung und Stabilität

Periodsäure-Lösung, Silbermethenamin-Gebrauchslösung, Goldchlorid-Lösung und Natriumthiosulfat-Lösung im Kühlschrank (bei 2–8 °C) aufbewahren.

Borax-Lösung bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. HINWEIS: Borax kann beim Kühlen Präzipitat bilden. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur bringen und wieder auflösen.

Die Etiketten der Reagenzien tragen das jeweilige Ablaufdatum.

Vorbereitung

Für die Silbermethenamin-Gebrauchslösung 8 ml Borax-Lösung, 100 ml deionisiertes Wasser und den Inhalt von einem Silbermethenamin-Fläschchen kombinieren. Mischen, bis die Bestandteile aufgelöst sind. Einmal verwenden, dann entsorgen.

HINWEIS: Die Silbermethenamin-Gebrauchslösung darf nicht mit Metallen in Kontakt kommen.

HINWEIS: Um die Anzahl der Tests pro Fläschchen auf zwei zu erhöhen, kann Silbermethenamin in 100 ml deionisiertem Wasser gelöst und fest verschlossen aufbewahrt werden. Diese Lösung ist bei einer Aufbewahrung im Kühlschrank (bei 2–8 °C) 1 Monat haltbar. Zum Gebrauch 50 ml einer Silbermethenamin-Lösung entnehmen und 4 ml Borax-Lösung zugeben. Den nicht verwendeten Teil der Silbermethenamin-Lösung zurück in den Kühlschrank stellen.

Alle Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur vorwärmen.

Vorsichtsmaßnahmen

Die in diesem Kit enthaltenen IVDs sind für die *In-vitro-Diagnostik* in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Laborpersonal bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Fungi-TISSUE-TROL™-Kontrollobjektträger enthalten in Paraffin eingebettetes tierisches Gewebe mit Pilzen und müssen als potenziell infektiös betrachtet werden.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Pilze und opportunistische Organismen wie *P. jirovecii*

In 10%igem neutral gepuffertem Formalin oder Bouin-Lösung fixieren, in Paraffin einbetten und Gewebeschnitte mit einer Dicke von 5 Mikrometern anfertigen.¹

Basalmembran

In 10%igem neutral gepuffertem Formalin, Bouin-Lösung oder Zenker-Lösung fixieren und Paraffinschnitte mit einer Dicke von 1 bis 4 Mikrometern anfertigen.¹

Hinweise

Färbetroge sind in Dishbrite Liquid Laboratory Glassware Cleaning Concentrate (Art.-Nr. S4107) und dann in Bleichlösung zu waschen sowie gründlich mit Leitungswasser und anschließend in mindestens 6 Spülgängen mit deionisiertem Wasser zu spülen.

Zur Verwendung des Mikrowellenofens sind Anweisungen im Benutzerhandbuch zu finden.

Standardverfahren

1. Wie im Abschnitt „Vorbereitung“ beschrieben Silbermethenamin-Gebrauchslösung zubereiten und in ein Wasserbad mit einer Temperatur von 62 °C stellen.
2. Die Gewebeschnitte entparaffinieren und in deionisiertem Wasser rehydrieren.
3. Die rehydrierten Gewebeschnitte bei Pilzen und opportunistischen Organismen für **5 Minuten** oder bei Basalmembranen für **11 Minuten** in Periodsäure-Lösung geben.
4. Die Objektträger entnehmen und in 6 Spülgängen mit deionisiertem Wasser abspülen.
5. **Zum Nachweis von Pilzen und opportunistischen Organismen** die Objektträger in vorgewärmte Silbermethenamin-Gebrauchslösung geben. Nach 20 Minuten mikroskopisch untersuchen. Pilze und opportunistische Organismen sollten sich dunkelbraun vor einem blassgelben Hintergrund abzeichnen.
Zum Nachweis von Basalmembranen die Objektträger in vorgewärmte Silbermethenamin-Gebrauchslösung geben. Nach 30 Minuten mikroskopisch untersuchen. Basalmembranen sollte sich schwarz vor einem dunkelgelb-braunen Hintergrund abzeichnen.
6. **HINWEIS:** Während der bei 62 °C erfolgenden Inkubation der Gewebeschnitte einen mit deionisiertem Wasser gefüllten Coplin-Färbetrog in ein 62 °C warmes Wasserbad stellen. Dieses Wasser zum Abspülen vor der in Schritt 5 vorgenommenen Auswertung verwenden. Die Gewebeschnitte in den angegebenen Zeitintervallen mikroskopisch auf eine ausreichende Färbung untersuchen. Die Objektträger erneut in warme Silbermethenamin-Gebrauchslösung geben, bis die gewünschte Farbtintensität erreicht ist.
6. Nach einer ausreichenden Strukturfärbung die Objektträger aus der Silbermethenamin-Gebrauchslösung nehmen und 6-mal mit raumwarmem deionisiertem Wasser abspülen.
7. Die Gewebeschnitte für **30 Sekunden** in Goldchlorid-Lösung färben.
8. 6-mal mit raumwarmem deionisiertem Wasser abspülen.
9. Die Gewebeschnitte für **2 Minuten** in Natriumthiosulfat-Lösung geben.
10. Unter fließendem Leitungswasser gründlich waschen.
11. Gemäß der persönlichen Präferenz mit Tartrazin-Lösung, Echtgrün FCF, Lichtgrün SF gelblich, Harris-Hämatoxylin-Lösung oder Eosin-Y-Lösung gegenfärben.
12. In Alkohol dehydrieren, in Xylol klären, eindecken und mikroskopisch untersuchen.

Mikrowellenverfahren

1. Die Objektträger entparaffinieren und in deionisiertem Wasser hydratisieren.
2. Die Objektträger in einen mit **40 ml** Periodsäure-Lösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben. Den Coplin-Färbetrog vor dem Hineinstellen in den Mikrowellenofen locker mit dem Deckel abdecken oder Coplin-Färbetroge mit vorperforierten Deckeln verwenden. In der Mikrowelle bei **800 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen. *** Periodsäure-Lösung kann wiederverwendet werden, wenn sie für **5 Minuten** bei Raumtemperatur anstatt in der Mikrowelle verwendet wird. *** Bei Basalmembranen beträgt die Inkubationszeit von Periodsäure-Lösung **11 Minuten bei Raumtemperatur**.
3. Die Objektträger aus der Periodsäure-Lösung entnehmen und in 6 Spülgängen mit deionisiertem Wasser spülen.
4. Die Objektträger in einen mit **40 ml** Silbermethenamin-Gebrauchslösung gefüllten Coplin-Färbetrog aus Kunststoff geben.
5. **Bei Pilzorganismen** in der Mikrowelle bei **600 Watt** für **35 Sekunden** erhitzen. Die Lösung mit einer Beralpipette oder einem Applikatorstäbchen vorsichtig mischen. Für **2 bis 3 Minuten** inkubieren. Nach längstens **2 bis 3 Minuten** die Objektträger in warmes deionisiertes Wasser legen und die Entwicklung mikroskopisch untersuchen. Wenn die Organismen nicht ausreichend entwickelt sind, die Objektträger erneut in Silbermethenamin-Gebrauchslösung geben und für **30 Sekunden bis 1 Minute** oder bis zum gewünschten Farbton einwirken lassen.

Bei Basalmembranen in der Mikrowelle bei **600 Watt** für **35 Sekunden** erhitzen. Die Lösung vorsichtig rühren. Die Objektträger für **5 Minuten** inkubieren. Ein zweites Mal in der Mikrowelle bei **600 Watt** für **10 Sekunden** erhitzen. Die Objektträger für **2 Minuten** entwickeln. Die Objektträger mikroskopisch untersuchen. Wenn die Objektträger nicht ausreichend entwickelt sind, den letzten Schritt wiederholen, bis der gewünschte Farbton erreicht ist.

6. Die Objektträger in 6 Spülgängen mit deionisiertem Wasser abspülen.
7. Die Objektträger für **30 Sekunden** bei **Raumtemperatur** in Goldchlorid-Lösung färben.
8. Die Objektträger in 6 Spülgängen mit deionisiertem Wasser abspülen.

9. Die Objektträger für **2 Minuten** bei **Raumtemperatur** in Natriumthiosulfat-Lösung legen.
10. Unter fließendem Leitungswasser gründlich waschen.
11. Gemäß der persönlichen Präferenz mit Echtgrün FCF, Lichtgrün SF gelblich, Tartrazin-Lösung, Harris-Hämatoxylin-Lösung oder Eosin-Y-Lösung gegenfärben.
12. In Alkohol dehydrieren, in Xylol klären, eindecken und mikroskopisch untersuchen.

Leistungsmerkmale

Zielstruktur	Färbungsergebnis
Pilze	Violettbraun bis schwarz
Opportunistische Organismen	Violettbraun bis schwarz
Basalmembran	Schwarz
Hintergrund	Abhängig von der Gegenfärbung

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Art.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
HT1001	Periodsäure-Lösung	Pilzorganismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1002	Borax-Lösung	Pilzorganismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1003	Silbermethenamin	Pilzorganismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1004	Goldchlorid-Lösung	Pilzorganismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
HT1005	Natriumthiosulfat-Lösung	Pilzorganismen	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

HT100A:



- H271: Kann Brand oder Explosion verursachen; starkes Oxidationsmittel.
- H302: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
- H334 Kann bei Einatmen Allergie, asthmaische Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
- H351: Kann vermutlich Krebs erzeugen.
- 360FD: Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
- H373: Kann bei Verschlucken die Organe (Schilddrüse) schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
- H412: Schädlich für Wasserorganismen mit lang anhaltenden Auswirkungen.
- P210: Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten.
- P273: Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
- P303 + P361 + P353: BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder mit dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338: WENN IM AUGE: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter spülen.

Wenn während der Verwendung dieses Produkts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Anweisungen für den Gebrauch beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches <i>In-vitro</i> -Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Bezeichnet den Bevollmächtigten in der Schweiz.		

Referenzen

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago, 1990.
8. Kok & Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon, Leiden, 1992.

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorie

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Ein Abschnitt mit Warnungen und Gefahren wurde hinzugefügt.
Rev. 7.0	2025
	Die Namenskonvention wurde aktualisiert. Die Erklärung zur Zweckbestimmung wurde überarbeitet. Verweise auf bestimmte Organismen wurden entfernt. Vertreter in der Schweiz und Informationen des Importeurs hinzugefügt.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Die Initiale M, TISSUE-TROL und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland, oder ihrer Tochtergesellschaften. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen über Marken sind über öffentlich zugängliche Quellen erhältlich.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instructions d'utilisation

Kit de coloration argentique (coloration de Gomori-Grocott modifiée)

Procédure n° HT100



Utilisation prévue

Le kit de coloration argentique (coloration de Gomori-Grocott modifiée) est destiné à être utilisé en histologie pour la visualisation des champignons, des membranes basales ainsi que de certains micro-organismes opportunistes. Le kit de coloration argentique (coloration de Gomori-Grocott modifiée) est destiné à un "usage en diagnostic *in vitro*". Réservez à un usage professionnel. La présente procédure qualitative et manuelle fournit des données permettant d'identifier les champignons, les membranes basales ainsi que certains micro-organismes opportunistes dans des échantillons de tissus humains. Lorsqu'elles sont examinées en association avec d'autres tests diagnostiques et d'autres informations, ces données peuvent être utilisées comme aide au diagnostic des infections fongiques.

Les procédures à base de méthénamine argent-borate sont bien documentées^{1,2}. En général, elles nécessitent une préparation de solution complexe avant la réalisation du test. La stabilité de la solution est limitée et les résultats varient significativement en raison de la nature imprévisible de l'imprégnation métallique et de la révélation photographique.

Le kit de coloration argentique (coloration de Gomori-Grocott modifiée) comprend un sel de travail méthénamine argent stable ainsi qu'un tampon, un réactif de virage de couleur et un révélateur. Le laboratoire dispose ainsi d'un seul kit pour visualiser les champignons, les membranes basales ainsi que les micro-organismes opportunistes³⁻⁵. Une procédure de coloration rapide utilisant un four à micro-ondes est incluse³⁻⁶.

En résumé, les polysaccharides de la paroi cellulaire et de la membrane basale des micro-organismes sont oxydés en aldéhydes par traitement avec de l'acide periodique. Le groupe aldéhyde, à un pH alcalin, réduit les ions argent en métal argent. Le rinçage avec des sels d'or entraîne la formation d'un complexe d'or plus stable et l'excès d'argent est éliminé par un lavage au thiosulfate.

Réactifs

Solution d'acide periodique (réf. HT1001-100ML)

Acide periodique, 1 g/dl, dans de l'eau désionisée

Solution de borate de sodium (réf. HT1002-100ML)

Borate de sodium, 5 g/dl, dans de l'eau désionisée. Danger. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Méthénamine argent (réf. HT1003-1VL ; HT1003-6VL)

Méthénamine argent, 110 mg/ fiole. Danger. Nocif en cas d'ingestion. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Susceptible de provoquer le cancer.

Solution de chlorure d'or (réf. HT1004-100ML)

Chlorure d'or, 200 mg/dl, dans de l'eau désionisée.

Solution de thiosulfate de sodium (réf. HT1005-100ML)

Thiosulfate de sodium, 2 g/dl, dans de l'eau désionisée.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Pinces en plastique ou pinces en métal recouvertes de paraffine.
- Lames de contrôle positives, comme les lames Fungi TISSUE-TROL™ (réf. TTR004), qui doivent être incluses dans chaque série.

Contre-coloration (facultatif)

(en fonction de l'échantillon et des préférences de chacun)

- Solution de tartrazine, réf. HT302 [HT3024-120ML ; HT3028-250ML]
- Solution d'hématoxiline de Harris, réf. HHS [HHS16-500ML ; HHS32-1L ; HHS80-2.5L ; HHS128-4L]
- Éosine Y, solution alcoolique, réf. HT1101 [HT110116-500ML ; HT110132-1L ; HT110180-2.5L ; HT1101128-4L]
- Éosine Y, solution aqueuse, réf. HT1102 [HT110216-500ML ; HT110232-1L ; HT110280-2.5L ; HT1102128-4L]
- Éosine Y, solution alcoolique, avec phloxine, réf. HT1103 [HT110316-500ML ; HT110332-1L ; HT110380-2.5L ; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF jaunâtre

Pour la procédure standard uniquement :

- Bain-marie, 62 °C

Pour la procédure au micro-ondes uniquement :

- Cuves à coloration de Coplin en plastique avec couvercles
- Four à micro-ondes

Conservation et stabilité

Conserver la solution d'acide periodique, le réactif de travail méthénamine argent, la solution de chlorure d'or et la solution de thiosulfate de sodium au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C).

Conserver la solution de borate de sodium à température ambiante (entre 18 et 26 °C). REMARQUE : le borate de sodium peut former un précipité pendant la réfrigération. Équilibrer la solution à température ambiante et redissoudre le précipité avant utilisation.

Les étiquettes des réactifs portent une date limite d'utilisation.

Préparation

Préparer la solution de travail de méthénamine argent avec 8 ml de solution de borate de sodium, 100 ml d'eau désionisée et le contenu d'une fiole de réactif de méthénamine argent. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Utiliser la solution de travail une seule fois, puis la jeter.

REMARQUE : ne pas laisser la solution de travail de méthénamine argent entrer en contact avec des métaux.

REMARQUE : pour doubler le nombre de tests par fiole, dissoudre le réactif méthénamine argent dans 100 ml d'eau désionisée et conserver la solution hermétiquement fermée. Cette solution est stable pendant 1 mois lorsqu'elle est conservée au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Au moment de l'utilisation, prélever 50 ml de solution de méthénamine argent et y ajouter 4 ml de solution de borate de sodium. Remettre ce qu'il reste de la solution de méthénamine argent non utilisée au réfrigérateur. Équilibrer tous les réactifs à température ambiante avant utilisation.

Précautions

Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* inclus dans ce kit sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Les lames de contrôle Fungi TISSUE-TROL™ sont constituées de coupes de tissus animaux inclus en paraffine contenant des champignons et doivent être considérées comme potentiellement infectieuses.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Champignons et micro-organismes opportunistes tels que *P. carinii*

Fixer dans du formol neutre tamponné à 10 % ou dans du liquide de Bouin, inclure en paraffine, puis réaliser des coupes de 5 microns d'épaisseur¹.

Membrane basale

Fixer dans du formol neutre tamponné à 10 %, du liquide de Bouin ou de Zenker, puis réaliser des coupes en paraffine de 1 à 4 microns d'épaisseur¹.

Remarques

Les cuves de coloration doivent être lavées avec du concentré de nettoyage liquide pour verrerie de laboratoire Dishbrite, réf. S4107, puis dans une solution d'eau de Javel, et rincées à l'eau de ville, puis dans au moins 6 bains d'eau désionisée.

En cas d'utilisation d'un four à micro-ondes, consulter le mode d'emploi du fabricant.

Procédure standard

- Préparer la solution de travail de méthénamine argent comme décrit dans la section "Préparation", puis la placer dans un bain-marie à 62 °C.
- Déparaffiner les coupes de tissus et les réhydrater dans de l'eau désionisée.
- Placer les coupes réhydratées dans la solution d'acide periodique pendant **5 minutes** pour les champignons et les micro-organismes opportunistes ou pendant **11 minutes** pour les membranes basales.
- Retirer les lames et les rincer dans 6 bains d'eau désionisée.
- Pour la visualisation des champignons et des micro-organismes opportunistes**, placer les lames dans la solution de travail de méthénamine argent préalablement chauffée. Examiner au microscope au bout de 20 minutes. Les champignons et les micro-organismes opportunistes doivent apparaître en marron foncé sur un fond jaune pâle. **Pour la visualisation des membranes basales**, placer les lames dans la solution de travail de méthénamine argent préalablement chauffée. Examiner au microscope au bout de 30 minutes. Les membranes basales doivent apparaître en noir sur un fond jaune foncé/marron. **REMARQUE :** pendant l'incubation des coupes à 62 °C, placer une cuve à coloration de Coplin contenant de l'eau désionisée dans le bain-marie à 62 °C. Utiliser cette eau pour le rinçage avant l'évaluation de l'étape 5. Examiner les coupes au microscope pour vérifier la bonne coloration aux intervalles de temps indiqués. Remettre les lames dans la solution de travail de méthénamine argent préalablement chauffée jusqu'à obtenir l'intensité souhaitée.
- Une fois la coloration attendue obtenue pour les différentes structures, retirer les lames de la solution de travail de méthénamine argent, puis les rincer 6 fois dans de l'eau désionisée à température ambiante.
- Réaliser le virage de couleur des coupes dans la solution de chlorure d'or pendant **30 secondes**.
- Rincer 6 fois dans de l'eau désionisée à température ambiante.
- Placer les coupes dans la solution de thiosulfate de sodium pendant **2 minutes**.
- Bien laver à l'eau de ville.
- Contre-colorer selon sa convenance avec la solution de tartrazine, le Fast Green FCF, le Light Green SF jaunâtre, la solution d'hématoxiline de Harris ou une solution d'éosine Y.
- Déshydrater dans l'alcool, éclaircir au xylène, procéder au montage, puis examiner au microscope.

Procédure au micro-ondes

- Déparaffiner les lames et les réhydrater dans de l'eau désionisée.
- Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution d'acide periodique. Couvrir la cuve à coloration de Coplin avec un couvercle sans le fermer hermétiquement avant de la placer dans le micro-ondes, ou bien utiliser des cuves à coloration de Coplin dont les couvercles sont pourvus d'orifices. Mettre au micro-ondes à une puissance de **800 watts** pendant **10 secondes**. ***La solution d'acide periodique peut être réutilisée en cas d'utilisation à température ambiante pendant **5 minutes** au lieu d'un chauffage au micro-ondes. ***Pour les membranes basales, le temps d'incubation de la solution d'acide periodique est de **11 minutes à température ambiante**.
- Retirer les lames de la solution d'acide periodique et les rincer dans 6 bains d'eau désionisée.
- Placer les lames dans une cuve à coloration de Coplin en plastique contenant **40 ml** de solution de travail de méthénamine argent.
- Pour les micro-organismes fongiques**, mettre au micro-ondes sur **600 watts** pendant **35 secondes**. Mélanger délicatement la solution à l'aide d'une pipette de transfert ou d'un bâtonnet. Laisser incubé pendant **2 à 3 minutes**. Au bout de **2 à 3 minutes** maximum, placer les lames dans de l'eau désionisée tiède et vérifier le développement de la coloration au microscope. Si la coloration des micro-organismes ne s'est pas suffisamment développée, remettre les lames dans la solution de travail de méthénamine argent et laisser reposer pendant **30 secondes à 1 minute** ou jusqu'à obtenir la couleur souhaitée.

Pour les membranes basales, mettre au micro-ondes à une puissance de **600 watts** pendant **35 secondes**. Mélanger délicatement la solution. Laisser incuber les lames pendant **5 minutes**. Mettre au micro-ondes une seconde fois à une puissance de **600 watts** pendant **10 secondes**. Laisser la coloration des lames se développer pendant **2 minutes**. Vérifier les lames au microscope. Si la coloration des lames ne s'est pas suffisamment développée, répéter la dernière étape jusqu'à obtenir la couleur souhaitée.

- 6. Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée.
- 7. Réaliser le virage de couleur des lames dans la solution de chlorure d'or pendant **30 secondes à température ambiante**.
- 8. Rincer les lames dans 6 bains d'eau désionisée.
- 9. Placer les lames dans la solution de thiosulfate de sodium pendant**2 minutes à température ambiante**.
- 10. Bien laver à l'eau de ville.
- 11. Contre-colorer selon sa convenance avec le Fast Green FCF, le Light Green SF jaunâtre, la solution de tartrazine, la solution d'hématoxyline de Harris ou une solution d'éosine Y.
- 12. Déshydrater dans l'alcool, éclaircir au xylène, procéder au montage, puis examiner au microscope.

Caractéristiques de performance

Structure cible	Résultat de la coloration
Champignons	Marron violacé à noir
Organismes opportunistes	Marron violacé à noir
Membrane basale	Noir
Fond	Dépend de la contre-coloration utilisée

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
HT1001	Solution d'acide périodique	Organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1002	Solution de borate de sodium	Organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1003	Méthénamine argent	Organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1004	Solution de chlorure d'or	Organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
HT1005	Solution de thiosulfate de sodium	Organismes fongiques	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

HT100A :



- H271 : Peut provoquer un incendie ou une explosion ; comburant puissant.
- H302 : Nocif en cas d'ingestion.
- H314 : Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.
- H334 Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.
- H351 : Susceptible de provoquer le cancer.
- 360FD : Peut nuire à la fertilité. Peut nuire au fœtus.
- H373 : Risque présumé d'effets graves pour les organes (thyroïde) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée par ingestion.
- H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
- P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.
- P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.
- P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P305 + P351 + P338 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Si, au cours de l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu'aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- 1. Sheehan D.C., Hrapchak B.B.: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., C.V. Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski J.P.: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian C.J., Schenk E.A., Clark G.: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong A.S.-Y., Milios J.: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J. Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn N.T.: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J. Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S.: Special stains in microwave oven. J. Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com. Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com/techservice.

Historique des révisions

Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2022
Rév. 6.0	2022
	Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Déplacement des mentions relatives à l'aide au diagnostic dans le paragraphe sur l'utilisation prévue. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Remplacement du texte "Material Safety Data Sheet" par "Safety Data Sheet" dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques.
Rév. 7.0	2025
	Mise à jour des conventions de nomenclature. Révision des mentions sur l'utilisation prévue. Suppression des références à des organismes spécifiques. Ajout des informations sur le mandataire suisse (CH-REP) et l'importateur suisse.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Le M majuscule, TISSUE-TROL et Sigma-Aldrich sont des marques de commerce de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne ou de ses filiales. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. Des informations détaillées sur les marques de commerce sont disponibles via des ressources accessibles au public.
© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Istruzioni per l'uso

Kit di colorazione per argenteare (GMS modificata)

Procedura n. HT100



Uso previsto

Il kit di colorazione per argenteare (GMS modificata) è destinato all'uso nella dimostrazione istologica di funghi, membrana basale e alcuni organismi opportunistici. Il kit di colorazione per argenteare (GMS modificata) è destinato a "uso diagnostico *in vitro*". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale identificano funghi, membrana basale e alcuni organismi opportunistici in campioni di tessuto di campioni umani. Questi dati, se esaminati insieme ad altri esami e informazioni diagnostiche, possono essere utilizzati come aiuto per la diagnosi di infezioni fungine.

Le procedure con metenamina borato per argenteare sono ben documentate.^{1,2} In genere, richiedono una preparazione elaborata della soluzione prima di testare le prestazioni. La stabilità della soluzione è limitata e i risultati variano notevolmente a causa della natura capricciosa dell'impregnazione del metallo e dello sviluppo fotografico.

Il kit di colorazione per argenteare (GMS modificata) incorpora un sale di metenamina d'argento stabile e funzionante insieme a tampone, reagente tonificante e sviluppatore. Ciò fornisce al laboratorio un pacchetto unico per la visualizzazione di funghi, membrana basale e organismi opportunistici.³⁻⁵ È inclusa un'applicazione per la colorazione rapida utilizzando un forno a microonde.³⁻⁶

In breve, i polisaccaridi della parete cellulare microbica e della membrana basale vengono ossidati in aldeidi mediante trattamento con acido periodico. Il gruppo aldeidico, a pH alcalino, riduce lo ione argento in argento metallico. Il risciacquo con sali d'oro forma un complesso dorato più stabile e l'argento in eccesso viene rimosso mediante un lavaggio con tiosolfato.

Reagenti

Soluzione acido periodico (N. di cat. HT1001-100ML)
Acido periodico, 1 g/dL, in acqua deionizzata

Soluzione di borace (N. di cat. HT1002-100ML)
Borace, 5 g/dL, in acqua deionizzata. Pericolo. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.

Metenamina d'argento (N. di cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Metenamina d'argento, 110 mg/fiala. Pericolo. Nociva se ingerita. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. Sospettato di provocare il cancro.

Soluzione di cloruro d'oro (N. di cat. HT1004-100ML)
Cloruro d'oro, 200 mg/dL, in acqua deionizzata.

Soluzione di tiosolfato di sodio (N. di cat. HT1005-100ML)
Tiosolfato di sodio, 2 g/dL, in acqua deionizzata.

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Pinzette in plastica o pinze metalliche rivestite di paraffina.
- I vetrini di controllo positivi, come Fungi TISSUE-TROL™ (N. di cat. TTR004) devono essere inclusi in ogni esecuzione.

Controcoloranti (opzionale)

(la scelta dipende dal campione e dalle preferenze individuali)

- Soluzione di tartrazina, N. di cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Soluzione di ematosilina di Harris, N. di cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2,5L; HHS128-4L]
- Eosina Y in soluzione alcolica [N. di cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2,5L; HT1101128-4L]
- Eosina Y in soluzione acquosa [N. di cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2,5L; HT1102128-4L]
- Eosina Y soluzione alcolica con floxina [N. di cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2,5L; HT1103128-4L]
- Verde fast FCF
- Verde chiaro SF giallastro

Solo per procedura standard:

- Bagnomaria, 62°C

Solo per procedura con forno a microonde:

- Vaschette Coplin in plastica con coperchi
- Forno a microonde

Conservazione e stabilità

Conservare la soluzione di acido periodico, il reagente di lavoro con metenamina d'argento, la soluzione di cloruro d'oro e la soluzione di tiosolfato di sodio in frigorifero (2-8 °C).

Conservare la soluzione di borace a temperatura ambiente (18-26 °C). NOTA: il borace può formare precipitato durante la refrigerazione. Portare a temperatura ambiente e sciogliere nuovamente prima dell'uso.

Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza.

Preparazione

Preparare la soluzione di lavoro di metenamina d'argento combinando 8 mL di soluzione di borace, 100 mL di acqua deionizzata e il contenuto di una fiala di reagente di metenamina d'argento. Mescolare fino a completo scioglimento. Utilizzarla solo una volta, poi gettarla.

NOTA: non permettere che la soluzione di lavoro di metenamina d'argento entri a contatto con i metalli.

NOTA: per aumentare a due i test per fiala, la metenamina d'argento può essere dissolta in 100 mL di acqua deionizzata e conservata ben chiusa. Se refrigerata (2-8 °C), questa soluzione è stabile per 1 mese. Quando pronta per l'uso, prendere 50 mL di una soluzione di metenamina d'argento e aggiungere 4 mL di soluzione di borace. Riporre la parte inutilizzata della soluzione di metenamina d'argento nel frigorifero.

Preriscaldare tutti i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit sono destinati alla diagnostica *in vitro* in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich devono essere utilizzati da personale di laboratorio addestrato alla manipolazione di campioni biologici umani potenzialmente infettivi, come anche all'uso di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio, che abbia la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

Seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative vigenti a livello locale, provinciale, regionale o nazionale.

I vetrini di controllo Fungi TISSUE-TROL™ sono tessuti umani inclusi in paraffina contenenti funghi e devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuto non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue o i campioni di tessuto devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Funghi e organismi opportunistici come *P. carinii*

Fissare in formalina tamponata neutra al 10% o in soluzione di Bouin, incorporare in paraffina e tagliare in sezioni da 5 micron.¹

Membrana basale

Fissare in formalina tamponata neutra al 10% o in soluzione di Bouin o Zenker e tagliare in sezioni di paraffina da 1-4 micron.¹

Note

Le vaschette di colorazione devono essere lavate con un concentrato liquido per la pulizia della vetreria da laboratorio Dishbrite, N. di cat. S4107, quindi con soluzione di candeggina, sciacquate bene in acqua di rubinetto e poi in almeno 6 bagni differenti di acqua deionizzata.

Se si utilizza un forno a microonde, consultare il relativo Manuale utente per le istruzioni.

Procedura standard

- Preparare la soluzione di lavoro di metenamina d'argento come descritto nella sezione "Preparazione" e metterla in un bagno ad acqua a 62 °C.
- Deparaffinare le sezioni di tessuto e reidratarle in acqua deionizzata.
- Mettere le sezioni reidratate in una soluzione di acido periodico per **5 minuti** per funghi e organismi opportunistici o **11 minuti** per la membrana basale.
- Rimuovere i vetrini e sciacquare in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- Per la dimostrazione di funghi e organismi opportunistici**, collocare i vetrini in soluzione di lavoro di metenamina d'argento preriscaldata. Esaminare al microscopio dopo 20 minuti. I funghi e gli organismi opportunistici devono essere marroni scuri su sfondo giallo pallido. **Per la dimostrazione della membrana basale**, posizionare i vetrini in una soluzione di lavoro di metenamina d'argento preriscaldata. Esaminare al microscopio dopo 30 minuti. La membrana basale dovrebbe essere di colore nero su uno sfondo giallo-marrone scuro. **NOTA:** durante l'incubazione delle sezioni a 62 °C, posizionare una vaschetta Coplin contenente acqua deionizzata in un bagno ad acqua a 62 °C. Utilizzare quest'acqua per il risciacquo prima della valutazione descritta al Passaggio 5. Esaminare le sezioni al microscopio per una colorazione adeguata a intervalli stabiliti. Riposizionare i vetrini nella soluzione di lavoro di metenamina d'argento calda fino al raggiungimento dell'intensità desiderata.
- Rimuovere i vetrini dalla soluzione di lavoro di metenamina d'argento dopo aver ottenuto un'adeguata colorazione strutturale e sciacquare 6 volte in acqua deionizzata a temperatura ambiente.
- Sfumare le sezioni in soluzione di cloruro d'oro per **30 secondi**.
- Sciacquare 6 volte in acqua deionizzata a temperatura ambiente.
- Porre le sezioni in soluzione di tiosolfato di sodio per **2 minuti**.
- Lavare bene con acqua corrente di rubinetto.
- Controcolorare secondo le preferenze personali con soluzione di tartrazina, verde fast FCF, verde chiaro SF giallastro, soluzione di ematosilina di Harris o eosina Y soluzione.
- Disidratare in alcool, chiarificare in xilene, montare ed esaminare al microscopio.

Procedura con forno a microonde

- Deparaffinare i vetrini e bagnarli con acqua deionizzata per idratarli.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di acido periodico contenuta in una vaschetta Coplin di plastica. Coprire leggermente la vaschetta Coplin prima di metterla nel forno a microonde, oppure utilizzare vaschette Coplin con coperchi con i fori. Scaldare in forno a microonde a **800 watt per 10 secondi**. ***La soluzione di acido periodico può essere riutilizzata se utilizzata a temperatura ambiente per **5 minuti** anziché scaldata nel microonde. ***Per le membrane basali, il tempo di incubazione con la soluzione di acido periodico è di **11 minuti a temperatura ambiente**.
- Rimuovere i vetrini dalla soluzione di acido periodico e sciacquare in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- Mettere i vetrini in **40 mL** di soluzione di lavoro di metenamina d'argento contenuta in una vaschetta Coplin di plastica.
- Per gli organismi fungini**, scaldare nel microonde a **600 watt per 35 secondi**. Mescolare delicatamente la soluzione con una pipetta beral o uno stick applicatore. Lasciare incubare per **2-3 minuti**. Dopo un tempo non superiore a **2 o 3 minuti**, posizionare i vetrini in acqua deionizzata calda e controllare lo sviluppo al microscopio. Se i microrganismi non sono sufficientemente sviluppati, rimettere i vetrini nella soluzione di lavoro di metenamina d'argento e lasciarli riposare da **30 secondi a 1 minuto** o fino al raggiungimento della tonalità desiderata.

Per la membrana basale, scaldare al microonde a **600 watt per 35 secondi**. Agitare delicatamente la soluzione. Lasciare incubare i vetrini per **5 minuti**. Scaldare al microonde una seconda volta a **600 watt per 10 secondi**. Lasciare che i vetrini si sviluppino per **2 minuti**. Controllare i vetrini al microscopio. Se i vetrini non sono sufficientemente sviluppati, ripetere l'ultimo passaggio fino a ottenere la tonalità desiderata.

- Sciacquare i vetrini in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.
- Sfumare i vetrini nella soluzione di cloruro d'oro per **30 secondi a temperatura ambiente**.
- Sciacquare i vetrini in 6 bagni differenti di acqua deionizzata.

9. Mettere i vetrini nella soluzione di tiosolfato di sodio per **2 minuti a temperatura ambiente**.
10. Lavare bene con acqua corrente di rubinetto.
11. Controcolorare secondo le preferenze personali con verde fast FCF, verde chiaro SF giallastro, soluzione di tartrazina, soluzione di ematossilina o eosina Y soluzione.
12. Disidratare in alcool, chiarificare in xilene, montare ed esaminare al microscopio.

Caratteristiche prestazionali

Struttura target	Risultato della colorazione
Funghi	Da marrone violaceo a nero
Organismi opportunistici	Da marrone violaceo a nero
Membrana basale	Nero
Sfondo	A seconda della controcolorazione

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica di Sigma-Aldrich.

Caratteristiche di prestazione analitica

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target confermano una sensibilità, specificità e ripetibilità del 100%.

N. di cat.	Descrizione del prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
HT1001	Soluzione di acido periodico	Organismi fungini	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT1002	Soluzione di borace	Organismi fungini	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT1003	Metenamina d'argento	Organismi fungini	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT1004	Soluzione di cloruro d'oro	Organismi fungini	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
HT1005	Soluzione di tiosolfato di sodio	Organismi fungini	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza e l'etichetta del prodotto.

HT100A:



- H271: Può provocare un incendio o un'esplosione; molto comburente.
- H302: Nocivo se ingerito.
- H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.
- H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
- H351: Sospettato di provocare il cancro.
- 360FD: Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto.
- H373: Può provocare danni agli organi (tiroide) in caso di esposizione prolungata o ripetuta, se ingerito.
- H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
- P210: Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme o altre fonti di innesco. Non fumare.
- P273: Non disperdere nell'ambiente.
- P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
- P303 + P361 + P533: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo, o a seguito di questo, si è verificato un grave incidente, segnalarlo al fabbricante e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli da usare in conformità con la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabbricante		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice del lotto
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Indica il rappresentante autorizzato in Svizzera		

Bibliografia

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Spostata l'espressione "ausilio per la diagnosi" nella sezione "Uso previsto". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiunta della sezione Avvertenze e Pericoli.
Rev. 7.0	2025
	Convenzione di denominazione aggiornate. Revisione dell'istruzione relativa all'uso previsto. Eliminate le referenze a organismi specifici. Aggiunta di informazioni su CH-REP e importatore.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

L'iniziale "M", TISSUE-TROL e Sigma-Aldrich sono marchi commerciali di Merck KGaA, Darmstadt, Germania o delle sue affiliate. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi proprietari. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse accessibili pubblicamente.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instrucciones de uso

Kit de tinción de plata (GMS modificado)

N.º de procedimiento HT100



Uso previsto

El kit de tinción de plata (GMS modificado) está destinado a demostrar la presencia histológica de hongos, membrana basal y algunos microorganismos oportunistas. El kit de tinción de plata (GMS modificado) es para «uso diagnóstico *in vitro*». Solo para uso profesional. Los datos obtenidos con este procedimiento manual y cualitativo identifican hongos, membrana basal y algunos microorganismos oportunistas en muestras de tejido humanas. Si estos datos se revisan junto con otras pruebas de diagnóstico e información, se pueden utilizar como ayuda para el diagnóstico de infecciones fúngicas.

Los procedimientos de borato-metenamina de plata están bien documentados^{1,2} y generalmente requieren una elaborada preparación de la solución antes de realizar la prueba. La estabilidad de la solución es limitada y los resultados varían considerablemente debido a la naturaleza caprichosa de la impregnación del metal y del desarrollo fotográfico.

El kit de tinción de plata (GMS modificado) incorpora una sal de metenamina de plata estable, con tampón, reactivo de tinción y revelador. Este producto ofrece al laboratorio un paquete único para visualizar hongos, membrana basal y microorganismos oportunistas.³⁻⁵ También se incluye una técnica de tinción rápida mediante horno microondas.³⁻⁶

En resumen, la pared de la célula microbiana y los polisacáridos de la membrana basal se oxidan a aldehídos mediante tratamiento con ácido peryódico. El grupo de aldehídos, con pH alcalino, reduce el ion de plata a plata metálica. El enjuague con sales de oro forma un complejo de oro más estable y el exceso de plata se elimina mediante un lavado con tiosulfato.

Reactivos

Solución de ácido peryódico (n.º de cat. HT1001-100ML)
Ácido peryódico, 1 g/dl, en agua desionizada.

Solución de bórax (n.º de cat. HT1002-100ML)
Bórax, 5 g/dl, en agua desionizada. Peligro. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.

Metenamina de plata (n.º de cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Metenamina de plata, 110 mg/vial. Peligro. Nocivo en caso de ingestión. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Se sospecha que provoca cáncer.

Solución de cloruro de oro (n.º de cat. HT1004-100ML)
Cloruro de oro, 200 mg/dl, en agua desionizada.

Solución de tiosulfato de sodio (n.º de cat. HT1005-100ML)
Tiosulfato de sodio, 2 g/dl, en agua desionizada.

Material especial necesario pero no suministrado

- Pinzas de plástico o pinzas metálicas recubiertas con parafina.
- En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo, como Fungi TISSUE-TROL™ (n.º de cat. TTR004).

Contratinciones (opcional)

(la elección depende de la muestra y las preferencias individuales)

- Solución de tartrazina (n.º de cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML])
- Solución de hematoxilina de Harris (n.º de cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2,5L; HHS128-4L])
- Solución de eosina Y, alcohólica (n.º de cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2,5L; HT1101128-4L])
- Solución de eosina Y, acuosa (n.º de cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2,5L; HT1102128-4L])
- Solución de eosina Y, alcohólica, con floxina (n.º de cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2,5L; HT1103128-4L])
- Verde rápido FCF
- Verde claro SF amarillento

Solo para el procedimiento estándar:

- Baño de agua a 62 °C.

Solo para el procedimiento de microondas:

- Frascos de Coplin de plástico con tapas
- Horno microondas

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar la solución de ácido peryódico, la metenamina de plata de trabajo, la solución de cloruro de oro y la solución de tiosulfato de sodio refrigeradas (2-8 °C).

Almacenar la solución de hematoxilina a temperatura ambiente (18-26 °C). NOTA: El bórax puede formar precipitado durante la refrigeración. Estabilizar a temperatura ambiente y volver a disolver antes de su uso.

Las etiquetas de los reactivos indican la fecha de caducidad.

Preparación

Preparar la solución de metenamina de plata de trabajo mezclando 8 ml de solución de bórax, 100 ml de agua desionizada y el contenido de un vial de metenamina de plata. Mezclar hasta que se disuelva. Utilizar una sola vez y desechar.

NOTA: No permitir que la solución de metenamina de plata de trabajo entre en contacto con metales.

NOTA: Para aumentar las pruebas por vial a dos, la metenamina de plata se puede disolver en 100 ml de agua desionizada y almacenarse bien tapada. Esta solución es estable cuando se refrigera (2-8°C) durante 1 mes. Cuando se vaya a usar, tomar 50 ml de una solución de metenamina de plata y agregar 4 ml de solución de bórax. Devolver la parte no utilizada de la solución de metenamina de plata al frigorífico.

Precalentar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

Precauciones

Los dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro* (DMDIV) incluidos en este kit están destinados a un uso de diagnóstico *in vitro* en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado puede utilizar los DMDIV de Sigma-Aldrich para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio, y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Los portaobjetos de control Fungi TISSUE-TROL™ son tejido animal incluido en parafina que contiene hongos y se debe considerar potencialmente infeccioso.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Hongos y microorganismos oportunistas, como *P. carinii*

Fijar en formol amortiguado neutro al 10 % o en solución de Bouin, incluir en parafina y cortar en secciones de 5 micras.¹

Membrana basal

Fijar en formol amortiguado neutro al 10 %, en solución de Bouin o en solución de Zenker, y cortar secciones de parafina de 1 a 4 micras.¹

Notas

Las cubetas de tinción deben lavarse con concentrado limpiador líquido de material de laboratorio Dishbrite (n.º de cat. S4107) y después con solución de lejía, aclararse bien con agua corriente y luego con al menos 6 cambios de agua desionizada.

Si se utiliza un horno microondas, consulte el manual del usuario para obtener instrucciones.

Procedimiento estándar

- Prepare la solución de metenamina de plata de trabajo tal y como se describe en la sección «Preparación» y colóquela en un baño de agua a 62 °C.
- Desparafine las secciones de tejido y rehidrátelas con agua desionizada.
- Coloque las secciones rehidratadas en solución de ácido peryódico durante **5 minutos** para hongos y microorganismos oportunistas u **11 minutos** para la membrana basal.
- Extraiga los portaobjetos y enjuague con 6 cambios de agua desionizada.
- Para demostrar la presencia de hongos y microorganismos oportunistas**, coloque los portaobjetos en una solución de metenamina de plata de trabajo precalentada. Exáminelos bajo el microscopio después de 20 minutos. Los hongos y los microorganismos oportunistas deben ser de color marrón oscuro sobre fondo amarillo pálido.
Para demostrar la presencia de membrana basal, coloque los portaobjetos en una solución de metenamina de plata de trabajo precalentada. Exáminelos bajo el microscopio después de 30 minutos. La membrana basal debe ser negra sobre fondo amarillo-marrón oscuro.
NOTA: Mientras se incuban secciones a 62 °C, coloque un frasco de Coplin con agua desionizada en un baño de agua a 62 °C. Utilice esta agua para el aclarado antes de la evaluación del paso 5. Examine las secciones bajo el microscopio para comprobar la tinción adecuada a los intervalos establecidos. Devuelva los portaobjetos a la solución de metenamina de plata de trabajo caliente hasta que se obtenga la intensidad deseada.
- Extraiga los portaobjetos de la solución de metenamina de plata de trabajo tras obtener la tinción estructural adecuada y enjuague 6 veces con agua desionizada a temperatura ambiente.
- Tiña las secciones en solución de cloruro de oro durante **30 segundos**.
- Enjuague 6 veces con agua desionizada a temperatura ambiente.
- Coloque las secciones en solución tiosulfato de sodio durante **2 minutos**.
- Lave bien con agua corriente.
- Contratiña según las preferencias personales con solución de tartrazina, verde rápido FCF, verde claro SF amarillento, solución de hematoxilina de Harris o solución de eosina Y.
- Dehidrate en alcohol, aclare en xileno, monte y examine bajo el microscopio.

Procedimiento con microondas

- Desparafine e hidrate los portaobjetos con agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de ácido peryódico dentro de un frasco de Coplin de plástico. Tape el frasco de Coplin sin apretar la tapa antes de colocarlo en el horno microondas o utilice tapas para frascos de Coplin con orificios. Coloque el frasco en el horno microondas a **800 vatios** durante **10 segundos**. *** La solución de ácido peryódico puede volver a utilizarse solo si se ha usado a temperatura ambiente durante **5 minutos** en lugar de utilizar el microondas. *** Para las membranas basales, el tiempo de incubación de la solución de ácido peryódico es de **11 minutos a temperatura ambiente**.
- Extraiga los portaobjetos de la solución de ácido peryódico y enjuague en 6 cambios de agua desionizada.
- Coloque los portaobjetos en **40 ml** de solución de trabajo de metenamina de plata dentro de un frasco de Coplin de plástico.
- Para microorganismos fúngicos**, utilice el microondas a **600 vatios** durante **35 segundos**. Mezzle suavemente la solución con una pipeta beral o una varilla aplicadora. Deje incubar durante **2-3 minutos**. Transcurridos de **2 a 3 minutos** como máximo, coloque los portaobjetos en agua desionizada caliente y compruebe su desarrollo bajo el microscopio. Si los microorganismos no están suficientemente desarrollados, vuelva a ponerlos en la solución de metenamina de plata y déjelos de **30 segundos a 1 minuto** o hasta que se obtenga el tono deseado.

Para la membrana basal, utilice el microondas a **600 vatios** durante **35 segundos**.

Agite suavemente la solución. Deje incubar los portaobjetos durante **5 minutos**. Colóquelos por segunda vez en el horno microondas a **600 vatios** durante **10 segundos**. Deje que los portaobjetos se desarrollen durante **2 minutos**. Compruebe los portaobjetos bajo el microscopio. Si los portaobjetos no se han desarrollado suficientemente, repita el último paso hasta que se logre el tono deseado.

- Enjuague bien en 6 cambios de agua desionizada.
- Tiña los portaobjetos en solución de cloruro de oro durante **30 segundos a temperatura ambiente**.
- Enjuague bien en 6 cambios de agua desionizada.

9. Sumerja los portaobjetos en solución de tiosulfato de sodio durante **2 minutos a temperatura ambiente**.
10. Lave bien con agua corriente.
11. Contratíña de acuerdo con las preferencias personales con verde rápido FCF, verde claro SF amarillento, solución de tartrazina, solución de hematoxilina de Harris o solución de eosina Y.
12. Deshidrate en alcohol, aclare en xileno, monte y examine bajo el microscopio.

Características de funcionamiento

Estructura objetivo	Resultado de la tinción
Hongos	Entre morado-marrón y negro
Microorganismos oportunistas	Entre morado-marrón y negro
Membrana basal	Negro
Fondo	Depende de la contratinción

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especifi- cidad in- traensayo	Sensibi- lidad in- traensayo	Especifi- dad inter- ensayo	Sensibili- dad inter- ensayo
HT1001	Solución de ácido peryódico	Microor- ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1002	Solución de bórax	Microor- ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1003	Metenamina de plata	Microor- ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1004	Solución de cloruro de oro	Microor- ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1005	Solución de tiosulfato de sodio	Microor- ganismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

HT100A:



- H271: Puede provocar un incendio o una explosión; muy comburente.
- H302: Nocivo en caso de ingestión.
- H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.
- H351: Se sospecha que provoca cáncer.
- 360FD: Puede perjudicar la fertilidad. Puede dañar al feto.
- H373: Puede provocar daños en los órganos (tiroides) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.
- H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
- P210: Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas, llamas al descubierto y otras fuentes de ignición. No fumar.
- P273: No dispersar en el medio ambiente.
- P280: Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua.
- P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

Si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, informe de ello al fabricante o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Indica el representante autorizado en Suiza		

Referencias

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en SigmaAldrich.com. Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en SigmaAldrich.com/techservice.

Historial de revisiones

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Se ha transferido a la nueva plantilla con el diseño de marca actual. Se ha especificado su uso por parte de profesionales en las secciones de uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se ha añadido una sección de advertencias y peligros.	
Rev. 7.0	2025
Convención de nomenclatura actualizada. Se ha revisado la declaración de uso previsto. Se han eliminado referencias a organismos específicos. Se ha añadido la información del representante de Suiza y del importador.	

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Brugsanvisning

Sølvfarvningssæt (modificeret GMS)

Procedure nr. HT100



Tilsigtet brug

Sølvfarvningssæt (modificeret GMS) er beregnet til brug ved histologisk påvisning af svampe, basalmembran og visse opportunistiske organismer. Sølvfarvningssæt (modificeret GMS) er beregnet til "in vitro diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, påviser svampe, basalmembran og visse opportunistiske organismer i humane vævsprøver. Disse data kan, når de gennemgås i sammenhæng med andre diagnostiske tests og oplysninger, bruges som hjælp ved diagnosticering af svampeinfektioner.

Procedurer med sølvmethenamin-borat er veldokumenterede.^{1,2} Generelt kræver disse omfattende fremstilling af opløsning før test. Opløsningens stabilitet er begrænset, og resultaterne varierer bemærkelsesværdigt på grund af den lunefulde karakter af metalimpregnering og fotografisk fremkaldelse.

Sølvfarvningssæt (modificeret GMS) indeholder en stabil arbejdsopløsning af sølvmethenaminsalt sammen med buffer, toningsreagens og fremkalder. Dette giver laboratoriet en unik pakke til visualisering af svampe, basalmembran og opportunistiske organismer.³⁻⁵ Der medfølger en applikation til hurtig farvning med en mikrobølgeovn.³⁻⁶

Kort sagt oxideres polysaccharider i mikrobielle cellevægge og basalmembraner til aldehyder ved behandling med perjodsyre. Aldehydgruppen reducerer ved alkalisk pH sølvion til metallisk sølv. Skylning med guldtsalte danner et mere stabilt guldkompleks, og overskydende sølv fjernes med en thiosulfatvask.

Reagenser

Periodic Acid Solution (kat.nr. HT1001-100ML)
Perjodsyre, 1 g/dl, i deioniseret vand

Borax Solution (kat. nr. HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, i deioniseret vand. Fare. Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Silver Methenamine (kat. nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Sølvmethenamin, 110 mg/hætteglas. Fare. Farlig ved indtagelse. Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Mistænkt for at fremkalde kræft.

Gold Chloride Solution (kat.nr. HT1004-100ML)
Guldklorid, 200 mg/dl, i deioniseret vand.

Sodium Thiosulfate Solution (kat.nr. HT1005-100ML)
Natriumthiosulfat, 2 g/dl, i deioniseret vand.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Plasttang eller paraffinbelagt metaltang.
- Positive kontrolobjektglas, som f.eks. Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR004), skal inkluderes i hver kørsel

Kontrastfarver (valgfrit)

(valget afhænger af prøven og individuelle præferencer)

- Tartrazine Solution, kat.nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hematoxylin Solution, kat.nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, kat.nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y Solution, Aqueous, kat.nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y Solution, Alcoholic, With Phloxine, kat.nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Kun til standardprocedure:

- Vandbad, 62 °C

Kun til mikrobølge-procedure:

- Coplin-skåle i plast med låg
- Mikrobølgeovn

Opbevaring og stabilitet

Opbevar perjodsyreopløsning, arbejdsopløsning af sølvmethenamin, guldkloridopløsning og natriumthiosulfatopløsning nedkølet (2-8 °C).

Opbevar boraxopløsning ved stuetemperatur (18-26 °C). BEMÆRK: Borax kan danne bundfald under nedkøling. Bring op på stuetemperatur og opløs igen inden brug.

Reagensmærkerne er forsynet med udløbsdato.

Klargøring

Fremstil arbejdsopløsning af sølvmethenamin ved at kombinere 8 ml boraxopløsning, 100 ml deioniseret vand og indholdet af ét hætteglas med sølvmethenamin. Bland, indtil det er opløst. Brug én gang, og bortskaf.

BEMÆRK: Arbejdsopløsning af Silver Methenamine må ikke komme i kontakt med metaller.

BEMÆRK: For at øge tests pr. hætteglas til to kan sølvmethenamin opløses i 100 ml deioniseret vand og opbevares tæt tillukket. Denne opløsning er stabil ved nedkøling (2-8 °C) i 1 måned. Når du er klar til at bruge den, skal du tage 50 ml af én sølvmethenamin-opløsning og tilsætte 4 ml boraxopløsning. Læg den ubrugte del af sølvmethenamin-opløsningen tilbage i køleskabet. Forvarm alle reagenser til stuetemperatur inden brug.

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, er beregnet til *in vitro-diagnostisk* brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er udelukkende beregnet til kvalificeret personales professionelle brug. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr og har en farveopfattelse og synssynke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

Fungi TISSUE-TROL™-kontrolobjektglas er paraffinindstøbt animalsk væv, der indeholder svampe, og skal betragtes som potentielt smittefarlige.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Svampe og opportunistiske organismer såsom *P. carinii*

Fiksér i 10 % neutral bufret formalin eller Bouins opløsning, indstøb i paraffin, og skær snit med en tykkelse på 5 mikron.¹

Basalmembran

Fiksér i 10 % neutral bufret formalin, Bouins opløsning eller Zenkers opløsning og skær paraffinsnit med en tykkelse på 1-4 mikron.¹

Bemærkninger

Farveskåle skal vaskes i Dishbrite Liquid Laboratory Glassware Cleaning Concentrate, kat.nr. S4107, dernæst blegemiddelopløsning, skylles derpå godt i postevand og derefter i mindst 6 hold deioniseret vand.

Hvis du bruger en mikrobølgeovn, skal du se i brugervejledningen for at få instruktioner.

Standardprocedure

1. Fremstil arbejdsopløsning af sølvmethenamin som beskrevet i afsnittet "Klargøring", og anbring den i et vandbad på 62 °C.
2. Afparraffiner vævssnittene, og rehydrér dem i deioniseret vand.
3. Anbring rehydrerede snit i perjodsyreopløsning i **5 minutter** for svampe og opportunistiske organismer eller **11 minutter** for basalmembran.
4. Fjern objektglassene, og skyl i 6 hold deioniseret vand.
5. **Til påvisning af svampe og opportunistiske organismer** anbringes objektglassene i forvarmet arbejdsopløsning af sølvmethenamin. Undersøg under mikroskop efter 20 minutter. Svampe og opportunistiske organismer skal være mørkebrune mod en lysegul baggrund. **Til påvisning af basalmembran** anbringes objektglassene i forvarmet arbejdsopløsning af sølvmethenamin. Undersøg under mikroskop efter 30 minutter. Basalmembran skal være sort mod en mørkegul-brun baggrund. **BEMÆRK:** Mens snittene inkuberes ved 62 °C, anbringes en Coplin-skål med deioniseret vand i et vandbad ved 62 °C. Brug dette vand til skylning før evaluering i trin 5. Snittene undersøges under mikroskop for tilstrækkelig farvning med de angivne intervaller. Sæt objektglassene tilbage i varm arbejdsopløsning af Silver Methenamine, indtil den ønskede intensitet er opnået.
6. Fjern objektglassene fra arbejdsopløsningen af Silver Methenamine, når der er opnået tilstrækkelig strukturel farvning, og skyl 6 gange i deioniseret vand ved stuetemperatur.
7. Ton snittene i guldkloridopløsning i **30 sekunder**.
8. Skyl i deioniseret vand ved stuetemperatur 6 gange.
9. Anbring snittene i natriumthiosulfatopløsning i **2 minutter**.
10. Vask grundigt under rindende postevand.
11. Foretag kontrastfarvning i henhold til personlige præferencer med tartrazinopløsning, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris hæmatoxylinopløsning eller Eosin Y-opløsning.
12. Dehydrér i alkohol, klarér i xylene, monter, og undersøg under mikroskop.

Mikrobølgeprocedure

1. Afparraffiner objektglassene, og hydrér i deioniseret vand.
2. Placer objektglassene i **40 ml** perjodsyreopløsning i en Coplin-skål af plast. Dæk Coplin-skålen løst med et låg, før skålen placeres i mikrobølgeovnen, eller brug Coplin-skåle med huller boret ind i lågene. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**. Perjodsyreopløsning kan genbruges, hvis den anvendes ved stuetemperatur i **5 minutter** i stedet for i mikrobølgeovn. For basalmembraner er inkubationstiden for perjodsyreopløsning **11 minutter ved stuetemperatur**.
3. Fjern objektglassene fra perjodsyreopløsning, og skyl i 6 hold deioniseret vand.
4. Anbring objektglassene i **40 ml** arbejdsopløsning af sølvmethenamin i en Coplin-skål af plast.
5. **For svampeorganismer** varmes i mikrobølgeovn ved **600 watt i 35 sekunder**. Bland forsigtigt opløsningen med en engangspipette eller applikatorpind. Lad inkubere i **2-3 minutter**. Efter højst **2 til 3 minutter** anbringes objektglassene i varmt, deioniseret vand, og udviklingen kontrolleres under mikroskop. Hvis organismene ikke er tilstrækkeligt udviklet, skal objektglassene returneres til arbejdsopløsning af sølvmethenamin, og de skal blive i opløsningen i **30 sekunder til 1 minut**, eller indtil den ønskede tone er opnået.

For basalmembran varmes i mikrobølgeovn ved **600 watt i 35 sekunder**. Ryst forsigtigt opløsningen. Lad objektglassene inkubere i **5 minutter**. Varm i mikrobølgeovn endnu en gang ved **600 watt i 10 sekunder**. Lad objektglassene udvikle sig i **2 minutter**. Kontrollér objektglassene under mikroskop. Hvis objektglassene ikke er tilstrækkeligt udviklede, gentages det sidste trin, indtil den ønskede tone er opnået.

6. Skyl objektglassene i 6 hold destilleret vand.
7. Ton objektglassene i guldkloridopløsning i **30 sekunder ved stuetemperatur**.
8. Skyl objektglassene i 6 hold destilleret vand.
9. Anbring objektglassene i natriumthiosulfatopløsning i **2 minutter ved stuetemperatur**.
10. Vask grundigt under rindende postevand.
11. Foretag kontrastfarvning i henhold til personlige præferencer med Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartrazinopløsning eller Harris hæmatoxylinopløsning eller Eosin Y-opløsning.
12. Dehydrér i alkohol, klarér i xylene, monter, og undersøg under mikroskop.

Præstationskarakteristika

Målstruktur	Farvningsresultat
Svampe	Purpur-brun til sort
Opportunistiske organismer	Purpur-brun til sort
Basalmembran	Sort
Baggrund	Afhængigt af kontrastfarve

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne for analyseydelsen for de givne tests, som blev udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % sensitivitet, specificitet og repetérbarhed.

Kat.nr.	Produktbe- skrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
HT1001	Perjodsyreop- løsning	Svampeorga- nismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1002	Boraxopløs- ning	Svampeorga- nismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1003	Sølvme- thenamin	Svampeorga- nismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1004	Guldkloridop- løsning	Svampeorga- nismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
HT1005	Natriumthio- sulfatopløs- ning	Svampeorga- nismer	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

HT100A:



- H271: Kan forårsage brand eller eksplosion, stærkt brandnærende.
- H302: Farlig ved indtagelse.
- H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion.
- H334 Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.
- H351: Mistænkt for at fremkalde kræft.
- 360FD: Kan skade forplantningsevnen. Kan skade det ufødte barn.
- H373: Kan forårsage organskader (thyroidea) ved længerevarende eller gentagen eksponering. ved indtagelse.
- H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
- P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P273: Undgå udledning til miljøet.
- P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til GIFTLINJEN/en læge.
- P305 + P351 + P338: VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til <i>in vitro-diagnostik</i>
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver den autoriserede repræsentant i Schweiz		

Referencer

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. Revideret tilsigtet brug for at stemme overens med IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet afsnit om advarsler og farer.
Rev. 7.0	2025
	Opdateret navngivningskonvention. Revideret erklæring om tilsigtet brug. Fjernet referencer til specifikke organismer. Tilføjet CH-REP og importøroplysninger.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Forbogstavet M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller deres tilknyttede virksomheder. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan indhentes via offentligt tilgængelige ressourcer.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Silverfärgkit (modifierad GMS)

Förfarande nr HT100



Avsedd användning

Silverfärgkitet (modifierad GMS) är avsett att användas vid histologisk påvisning av svampar, basalmembran och vissa opportunistiska organismer. Silverfärgkitet (modifierad GMS) är för *in vitro*-diagnostiskt bruk. Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhålls med detta manuella kvalitativa förfarande identifierar svampar, basalmembran och vissa opportunistiska organismer i vävnadsprover från mänskliga prover. Dessa data kan, när de granskas tillsammans med andra diagnostiska tester och informationskällor, användas som ett hjälpmedel för diagnostisering av svampinfektioner.

Silvermetenenaminboratförfaranden är väldokumenterade.^{1,2} Generellt kräver dessa noggrann lösningsberedning innan testningen. Lösningsstabiliteten är begränsad och resultaten varierar anmärkningsvärt på grund av metallimpregneringens och den fotografiska framkallningens oförutsägarbarhet.

Silverfärgkitet (modifierad GMS) innehåller ett stabilt silvermetenenaminarbetssalt tillsammans med buffert, toningsreagens och framkallare. Detta ger laboratoriet ett unikt paket för att visualisera svampar, basalmembran och opportunistiska organismer.³⁻⁵ En tillämpning för snabb färgning med en mikrovågsgugn ingår.³⁻⁶

Kort sagt oxideras mikrobiella cellväggar och basalmembrans polysackarider till aldehyder genom behandling med perjodsyra. Vid alkaliskt pH-värde reducerar aldehydgruppen silverjon till metalliskt silver. Sköljning med guldsluter bildar ett mer stabilt guldkomplex och överskott av silver avlägsnas med en tiosulfatvätska.

Reagenser

Perjodsyralösning (kat.nr HT1001-100ML)
Perjodsyra, 1 g/dl, i avjoniserat vatten

Boraxlösning (kat.nr HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, i avjoniserat vatten. Fara. Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

Silvermetenenamin (kat.nr HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Silvermetenenamin, 110 mg/flaska. Fara. Skadligt vid förtäring. Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. Misstänks kunna orsaka cancer.

Guldkloridlösning (kat.nr HT1004-100ML)
Guldklorid, 200 mg/dl, i avjoniserat vatten.

Natriumtiosulfatlösning (kat.nr HT1005-100ML)
Natriumtiosulfat, 2 g/dl, i avjoniserat vatten.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Plastpincett eller paraffinbelagd metallpincett.
- Objektglas med positiva kontroller, som Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr TTR004) ska inkluderas i varje körning.

Motfärger (tillval)

(valet beror på provet och individuella preferenser)

- Tartrazinlösning, kat.nr HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris hematoxylinlösning, kat.nr HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin Y-lösning, alkoholhaltig, kat.nr HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y-lösning, vattenhaltig, kat.nr HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y-lösning, alkoholhaltig, med floxin, kat.nr HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Endast för standardförfarande:

- Vattenbad, 62 °C

Endast för mikrovågsförfarande:

- Coplinburkar i plast med lock
- Mikrovågsgugn

Förvaring och hållbarhet

Förvara perjodsyralösning, silvermetenenaminarbetslösning, guldkloridlösning och natriumtiosulfatlösning i kylskåp (2–8 °C).

Förvara boraxlösning i rumstemperatur (18–26 °C). OBS! Borax kan bilda fällningar i kylskåp. Låt det uppnå rumstemperatur och lösas upp igen före användning.

Utgångsdatum finns på reagensetiketterna.

Beredning

Bered silvermetenenaminarbetslösning genom att kombinera 8 ml boraxlösning, 100 ml avjoniserat vatten och innehållet i en flaska med silvermetenenamin. Blanda tills allt har lösts upp. Använd en gång och kassera sedan.

OBS! Låt inte silvermetenenaminarbetslösning komma i kontakt med metaller.

OBS! För att öka antalet tester per flaska till två kan silvermetenenamin lösas upp i 100 ml avjoniserat vatten och förvaras med ett tätt åtsittande lock. Denna lösning är hållbar i kylskåp (2–8 °C) i 1 månad. När den ska användas tar du 50 ml av en silvermetenenaminlösning och tillsätter 4 ml boraxlösning. Sätt tillbaka den oanvända delen silvermetenenaminlösning i kylskåpet. Förvärm reagensen till rumstemperatur innan de ska användas.

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik som ingår i denna sats är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra färgseende och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Fungi TISSUE-TROL™-objektglas med kontroller är paraffinbäddad djurvävnad som innehåller svampar och ska betraktas som potentiellt smittsamma.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Svampar och opportunistiska organismer som *P. carinii*

Fixera i 10 % neutral buffrad formalin eller Bouins lösning, bädda in i paraffin och skär 5 mikron tjocka snitt.¹

Basalmembran

Fixera i 10 % neutral buffrad formalin, Bouins eller Zenkers lösning och skär paraffinsnitt på 1–4 mikron.¹

Anmärkningar

Färgningsskålar ska tvättas i Dishbrite flytande laboratorieglass rengöringskoncentrat, kat.nr S4107 och sedan i blekmedelslösning. Efter det ska de sköljas väl i kranvatten och sedan i minst 6 byten avjoniserat vatten.

Om en mikrovågsgugn används ser du användarhandboken till den för instruktioner.

Standardförfarande

1. Bered silvermetenenaminarbetslösning enligt beskrivningen i avsnittet Beredning och lägg i ett 62 °C-vattenbad.
2. Avparaffinera vävnadssnitten och rehydratisera till avjoniserat vatten.
3. Låt de rehydratiserade snitten ligga i perjodsyralösning i **5 minuter** för svampar och opportunistiska organismer eller i **11 minuter** för basalmembran.
4. Ta upp objektglasen och skölj i 6 byten avjoniserat vatten.
5. **För påvisning av svampar och opportunistiska organismer** ska objektglasen läggas i silvermetenenaminarbetslösning. Undersök mikroskopiskt efter 20 minuter. Svampar och opportunistiska organismer ska vara mörkbruna mot en ljusgul bakgrund. **För påvisning av basalmembran** lägger du objektglasen i föruppvärmd silvermetenenaminarbetslösning. Undersök mikroskopiskt efter 30 minuter. Basalmembranet ska vara svart mot en mörkgul-brun bakgrund. **OBS:** Medan snitten inkuberas i 62 °C ska du sätta en coplinburk innehållande avjoniserat vatten i ett 62 °C-vattenbad. Använd detta vatten för sköljning innan utvärderingen i steg 5. Undersök snitten mikroskopiskt avseende adekvat färgning vid angivna intervall. Sätt tillbaka objektglasen i varm silvermetenenaminarbetslösning tills önskad intensitet uppnås.
6. Ta upp objektglasen ur silvermetenenaminarbetslösningen efter att tillräcklig strukturell färgning har uppnåtts och skölj 6 gånger i rumstempererat avjoniserat vatten.
7. Nyansera snitten i guldkloridlösning i **30 sekunder**.
8. Skölj i rumstempererat avjoniserat vatten 6 gånger.
9. Låt snitten ligga i natriumtiosulfatlösning i **2 minuter**.
10. Tvätta ordentligt i rinnande kranvatten.
11. Motfärga enligt personliga önskemål med tartrazinlösning, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris hematoxylinlösning eller eosin Y-lösning.
12. Dehydratisera i alkohol, klargör i xylene, montera och undersök mikroskopiskt.

Mikrovågsförfarande

1. Avparaffinera objektglasen och hydrera till avjoniserat vatten.
2. Lägg objektglasen i **40 ml** perjodsyralösning i en coplinburk av plast. Täck coplinburken med ett löst åtsittande lock innan du sätter den i mikrovågsgugnen eller använd coplinburkar med lock med iborrade hål. Värm i mikrovågsgugn på **800 watt i 10 sekunder**. ***Perjodsyralösning kan återanvändas om den används i rumstemperatur i **5 minuter** i stället för att köras i mikrovågsgugn. ***För basalmembran är inkubationstiden med perjodsyralösning **11 minuter i rumstemperatur**.
3. Ta upp objektglasen ur perjodsyralösningen och skölj i 6 byten avjoniserat vatten.
4. Låt objektglasen ligga i **40 ml** silvermetenenaminarbetslösning i en coplinburk av plast.
5. **För svamporganismer** kör du i mikrovågsgugn på **600 watt i 35 sekunder**. Blanda lösningen försiktigt med en engångspipett eller applikatorpinne. Låt inkubera i **2–3 minuter**. Efter högst **2 till 3 minuter** lägger du objektglasen i varmt avjoniserat vatten och kontrollerar framkallningen mikroskopiskt. Om inte organismerna har framkallats tillräckligt lägger du tillbaka objektglasen i silvermetenenaminarbetslösningen och låter dem ligga där i **30 sekunder** till **1 minut** eller tills önskad nyans uppnås.

För basalmembran kör du i mikrovågsgugn på **600 watt i 35 sekunder**. Rör om lösningen försiktigt. Låt objektglasen inkubera i **5 minuter**. Kör i mikrovågsgugn en andra gång på **600 watt i 10 sekunder**. Låt objektglasen framkallas i **2 minuter**. Kontrollera objektglasen mikroskopiskt. Om inte objektglasen har framkallats tillräckligt upprepar du det sista steget tills önskad nyans uppnås.

6. Skölj objektglasen i 6 byten avjoniserat vatten.
7. Nyansera objektglasen i guldkloridlösning i **30 sekunder i rumstemperatur**.
8. Skölj objektglasen i 6 byten avjoniserat vatten.
9. Låt objektglasen ligga i natriumtiosulfatlösning i **2 minuter i rumstemperatur**.
10. Tvätta ordentligt i rinnande kranvatten.
11. Motfärga enligt personliga önskemål med Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartrazinlösning, eller Harris hematoxylinlösning, eller eosin Y-lösning.
12. Dehydratisera i alkohol, klargör i xylene, montera och undersök mikroskopiskt.

Prestandaegenskaper

Målstruktur	Färgningsresultat
Svampar	Lilabrunt till svart
Opportunistiska organismer	Lilabrunt till svart
Basalmembran	Svart
Bakgrund	Beror på motfärgen

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrich för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
HT1001	Perjodsyralösning	Svamporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1002	Boraxlösning	Svamporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1003	Silvermetenamin	Svamporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1004	Guldkloridlösning	Svamporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1005	Natriumtiosulfatlösning	Svamporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

HT100A:



- H271: Kan orsaka brand eller explosion. Starkt oxiderande.
- H302: Skadligt vid förtäring.
- H314: Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H317: Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
- H334 Kan orsaka allergiska eller astmatiska symtom eller andningssvårigheter vid inandning.
- H351: Misstänks kunna orsaka cancer.
- 360FD: Kan skada fertiliteten. Kan skada det ofödda barnet.
- H373: Kan orsaka organskador (sköldkörtelskador) genom lång eller upprepad exponering vid förtäring.
- H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.
- P210: Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden.
- P273: Undvik utsläpp i miljön.
- P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
- P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338: OM LÖSNINGEN KOMMER IN I ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat ett allvarligt tillbud medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten Schweiz		

Referenser

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2:a utg, CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986

- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontakttuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Användningsområde" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat uttalandet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Avsedd användning". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontakttuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontakttuppgifter för negativa händelser. Lagt till avsnitt om varningar och faror.	
Rev. 7.0	2025
Uppdaterat namngivningskonventionen. Reviderat texten om avsedd användning. Tagit bort hänvisningar till specifika organismer. Lagt till CH-REP- och importörsinformation.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initialen M, TISSUE-TROL och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dess dotterbolag. Övriga varumärken tillhör respektive ägare. Detaljerad information om varumärken finns tillgänglig via allmänt tillgängliga resurser.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instruções de utilização

Kit de Coloração de Prata (GMS Modificada)

Procedimento N.º HT100



Utilização prevista

O Kit de Coloração de Prata (GMS Modificada) destina-se a ser utilizado na demonstração histológica de fungos, da membrana base e de alguns organismos oportunistas. O Kit de Coloração de Prata (GMS Modificada) destina-se a "Utilização para diagnóstico *in vitro*". Apenas para utilização por profissionais. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo e manual identificam fungos, membrana base e alguns organismos oportunistas em amostras de tecido humano. Quando analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico e informações, estes dados podem ser utilizados como auxiliar no diagnóstico de infecções fúngicas.

Os procedimentos com prata/bórato de metenamina estão bem documentados.^{1,2} Geralmente, estes requerem uma preparação elaborada da solução antes da realização do teste. A estabilidade da solução é limitada e os resultados variam consideravelmente devido à natureza instável da impregnação de metal e do desenvolvimento fotográfico.

O Kit de Coloração de Prata (GMS Modificada) incorpora um sal de metenamina de prata de trabalho estável, juntamente com tampão, reagente de tonalização e desenvolvedor. Isto proporciona ao laboratório um pacote único para a visualização de fungos, da membrana base e de organismos oportunistas.³⁻⁵ Está incluída uma aplicação para coloração rápida utilizando um forno micro-ondas.³⁻⁶

Em resumo, os polissacarídeos da parede celular microbiana e da membrana base são oxidados para aldeídos através do tratamento com ácido periódico. O grupo de aldeídos, com pH alcalino, reduz o ião de prata a prata metálica. O enxaguamento com sais de ouro forma um complexo de ouro mais estável e a prata em excesso é removida por uma lavagem com tiossulfato.

Reagentes

Solução de ácido periódico (N.º de cat. HT1001-100ML)

Ácido periódico, 1 g/dl, em água desionizada

Solução de bórax (N.º de cat. HT1002-100ML)

Bórax, 5 g/dl, em água desionizada. Perigo. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

Metenamina de prata (N.º de cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Metenamina de prata, 110 mg/frasco. Perigo. Nocivo por ingestão. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Suspeito de provocar cancro.

Solução de cloreto de ouro (N.º de cat. HT1004-100ML)

Cloreto de ouro, 200 mg/dl, em água desionizada.

Solução de tiossulfato de sódio (N.º de cat. HT1005-100ML)

Tiossulfato de sódio, 2 g/dl, em água desionizada.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Fórceps de plástico ou fórceps de metal revestidos a parafina.
- Devem ser incluídas lâminas de controlo positivo, tais como Fungi TISSUE-TROL™ (N.º de cat. TTR004), em cada série.

Contracolorações (opcional)

(a escolha depende da amostra e das preferências individuais)

- Solução de tartrazina, N.º de cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Solução de Hematoxilina de Harris, N.º de cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Solução de eosina Y, alcoólica, N.º de cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Solução de eosina Y, aquosa, N.º de cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Solução de eosina Y, alcoólica, com Floxina, N.º de cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Verde rápido FCF
- SF verde-claro amarelado

Apenas para o procedimento padrão:

- Banho-maria, 62 °C

Apenas para o procedimento em micro-ondas:

- Jarras de Coplin de plástico com tampas
- Forno micro-ondas

Conservação e estabilidade

Conservar a Solução de ácido periódico, a Metenamina de prata de trabalho, a Solução de cloreto de ouro e a Solução de tiossulfato de sódio refrigeradas (2–8 °C).

Conservar a Solução de bórax à temperatura ambiente (18–26 °C). NOTA: O bórax pode formar precipitado durante a refrigeração. Deixar atingir a temperatura ambiente e voltar a dissolver antes de utilizar.

As etiquetas dos reagentes têm data de validade.

Preparação

Preparar a Solução de trabalho de metenamina de prata combinando 8 ml de Solução de bórax,

100 ml de água desionizada e o conteúdo de um frasco de metenamina de prata. Misturar até dissolver. Utilizar uma vez e, em seguida, eliminar.

NOTA: não permitir que a Solução de trabalho de metenamina de prata entre em contacto com metais.

NOTA: para aumentar os testes por frasco para dois, a Metenamina de prata pode ser dissolvida em 100 ml de água desionizada e conservada bem fechada. Esta solução é estável quando refrigerada (2–8 °C) durante 1 mês. Quando estiver pronto para utilizar, adicionar 4 ml de Solução de bórax a 50 ml de uma Solução de metenamina de prata. Voltar a colocar a porção não utilizada da Solução de metenamina de prata no frigorífico.

Pré-aquecer todos os reagentes até à temperatura ambiente antes da utilização.

Precauções

Os DIV incluídos neste kit destinam-se a utilização para diagnóstico *in vitro* num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

As lâminas de controlo Fungi TISSUE-TROL™ são tecido animal impregnado em parafina que contém fungos e devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

Fungos e organismos oportunistas como *P. carinii*

Fixar em formalina neutra tamponada a 10% ou solução de Bouin, impregnar em parafina e cortar secções de 5 micrones.¹

Membrana base

Fixar em formalina neutra tamponada a 10% ou em solução de Bouin ou Zenker, e cortar secções de parafina de 1–4 micrones.¹

Notas

As tinas de coloração devem ser lavadas no concentrado de limpeza líquido para artefactos de vidro para laboratório Disbrite, N.º de cat. S4107, em seguida em solução de lixívia, bem enxaguadas em água corrente e, em seguida, em pelo menos 6 mudanças de água desionizada.

Se for utilizado um forno micro-ondas, consulte o Manual do Utilizador para obter instruções.

Procedimento padrão

1. Preparar a Solução de trabalho de metenamina de prata conforme descrito na secção "Preparação", e colocar em banho-maria a 62 °C.
2. Desparafinar as secções de tecido e voltar a hidratar com água desionizada.
3. Colocar secções reidratadas em Solução de ácido periódico durante **5 minutos** para fungos e organismos oportunistas, ou **11 minutos** para membrana base.
4. Remover as lâminas e enxaguar em 6 mudanças de água desionizada.
5. **Para a demonstração de fungos e organismos oportunistas**, colocar as lâminas em Solução de trabalho de metenamina de prata pré-aquecida. Examinar microscopicamente após 20 minutos. Os fungos e os organismos oportunistas devem ser castanho-escuro contra um fundo amarelo claro.
Para a demonstração da membrana base, colocar as lâminas em Solução de trabalho de metenamina de prata pré-aquecida. Examinar microscopicamente após 30 minutos. A membrana base deve ser preta contra um fundo amarelo acastanhado escuro.
NOTA: durante a incubação das secções a 62 °C, colocar uma jarra de Coplin com água desionizada em banho-maria a 62 °C. Utilizar esta água para enxaguar antes de proceder à avaliação no passo 5. Examinar as secções microscopicamente quanto a coloração adequada nos intervalos indicados. Voltar a colocar as lâminas na Solução de trabalho de metenamina de prata quente até atingir a intensidade pretendida.
6. Remover as lâminas da Solução de trabalho de metenamina de prata após obter uma coloração estrutural adequada e enxaguar 6 vezes em água desionizada à temperatura ambiente.
7. Efetuar a tonalização das secções na Solução de cloreto de ouro durante **30 segundos**.
8. Enxaguar em água desionizada à temperatura ambiente 6 vezes.
9. Colocar as secções em Solução de tiossulfato de sódio durante **2 minutos**.
10. Lavar bem em água da torneira corrente.
11. Efetuar a contracoloração de acordo com as preferências pessoais com Solução de tartrazina, Verde rápido FCF, SF verde-claro amarelado, Solução de Hematoxilina de Harris ou Solução de eosina Y.
12. Desidratar em álcool, limpar em xileno, montar e examinar microscopicamente.

Procedimento em micro-ondas

1. Desparafinar as lâminas e hidratar com água desionizada.
2. Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de ácido periódico contida numa jarra de Coplin de plástico. Colocar a tampa na jarra de Coplin sem apertar antes de colocar no forno micro-ondas ou utilizar tampas da jarra de Coplin com orifícios perfurados. Levar ao micro-ondas a **800 watts** durante **10 segundos**. ***A Solução de ácido periódico pode ser reutilizada se for utilizada à temperatura ambiente durante **5 minutos** em vez de ir ao micro-ondas. ***Para membranas base, o tempo de incubação na Solução de ácido periódico é de **11 minutos à temperatura ambiente**.
3. Remover as lâminas da Solução de ácido periódico e enxaguar em 6 mudanças de água desionizada.
4. Colocar as lâminas em **40 ml** de Solução de trabalho de metenamina de prata contida numa jarra de Coplin de plástico.
5. **Para organismos fúngicos**, levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **35 segundos**. Misturar suavemente a solução com uma pipeta de Beral ou uma vareta aplicadora. Deixar incubar durante **2–3 minutos**. Após um período não superior a **2 a 3 minutos**, colocar as lâminas em água desionizada quente e verificar o desenvolvimento microscopicamente. Se os organismos não estiverem suficientemente desenvolvidos, voltar a colocar as lâminas na Solução de trabalho de metenamina de prata e deixar repousar durante **30 segundos a 1 minuto** ou até alcançar o tom pretendido.

Para a membrana base, levar ao micro-ondas a **600 watts** durante **35 segundos**. Agitar suavemente a solução. Deixar as lâminas incubar durante **5 minutos**. Levar ao micro-ondas uma segunda vez a **600 watts** durante **10 segundos**. Deixar as lâminas desenvolver durante **2 minutos**. Verificar as lâminas microscopicamente. Se as lâminas não estiverem suficientemente desenvolvidas, repetir o último passo até alcançar o tom pretendido.

6. Enxaguar as lâminas em 6 mudanças de água desionizada.

- 7. Efetuar a tonalização das lâminas na Solução de cloreto de ouro durante **30 segundos** à **temperatura ambiente**.
- 8. Enxaguar as lâminas em 6 mudanças de água desionizada.
- 9. Colocar as lâminas em Solução de tiossulfato de sódio durante **2 minutos** à **temperatura ambiente**.
- 10. Lavar bem em água da torneira corrente.
- 11. Efetuar a contracoloração de acordo com as preferências pessoais com Verde rápido FCF, SF verde-claro amarelado, Solução de Hematoxilina de Harris ou Solução de eosina Y.
- 12. Desidratar em álcool, limpar em xileno, montar e examinar microscopicamente.

Características do desempenho

Estrutura alvo	Resultado da coloração
Fungos	Castanho arroxeado a preto
Organismos oportunistas	Castanho arroxeado a preto
Membrana base	Preto
Fundo	Depende da contracoloração

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características do desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade de intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade de interensaio
HT1001	Solução de ácido periódico	Organismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1002	Solução de bórax	Organismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1003	Metenamina de prata	Organismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1004	Solução de cloreto de ouro	Organismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
HT1005	Solução de tiossulfato de sódio	Organismos fúngicos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

HT100A:



- H271: Risco de incêndio ou de explosão; muito combustível.
- H302: Nocivo por ingestão.
- H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
- H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.
- H351: Suspeito de provocar cancro.
- 360FD: Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro.
- H373: Pode afetar os órgãos (tireoide) após exposição prolongada ou repetida se ingerido.
- H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
- P210: Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
- P273: Evitar a libertação para o ambiente.
- P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
- P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva RDIV 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador

	Indica o representante autorizado na Suíça
--	--

Referências

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em SigmaAldrich.com. Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site SigmaAldrich.com/techservice.

Histórico de revisões

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição da secção Avisos e Perigos.	
Rev. 7.0	2025
Atualização da convenção de nomenclatura. Revisão da declaração de utilização prevista. Remoção de referências a organismos específicos. Adição das informações CH-REP e do importador.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

O M inicial, TISSUE-TROL, e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha ou das respetivas afiliadas. Todas as outras marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários. Estão disponíveis informações detalhadas sobre marcas comerciais através de recursos acessíveis ao público.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Οδηγίες χρήσης

Κιτ χρώσης αργύρου (τροποποιημένη GMS)

Διαδικασία αρ. HT100



Προοριζόμενη χρήση

Το κιτ χρώσης αργύρου (τροποποιημένη GMS) προορίζεται για χρήση στην ιστολογική ανίχνευση μυκήτων, βασικής μεμβράνης και ορισμένων ευκαιριακών οργανισμών. Το κιτ χρώσης αργύρου (τροποποιημένη GMS) προορίζεται για «*in vitro*» διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτήν τη μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζουν μύκητες, βασική μεμβράνη και ορισμένους ευκαιριακούς οργανισμούς σε δείγματα ανθρώπινων ιστών. Αυτά τα δεδομένα, όταν εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες διαγνωστικές εξετάσεις και πληροφορίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοήθημα για τη διάγνωση μυκητιασικών λοιμώξεων.

Οι διαδικασίες βορικής μεθenaμίνης αργύρου είναι καλώς τεκμηριωμένες.^{1,2} Γενικά, απαιτούν λεπτομερή παρασκευή του διαλύματος πριν από την εκτέλεση της δοκιμής. Η σταθερότητα του διαλύματος είναι περιορισμένη και τα αποτελέσματα ποικίλλουν σημαντικά λόγω της ευμετάβλητης φύσης του εμποτισμού των μετάλλων και της φωτογραφικής ανάπτυξης.

Το κιτ χρώσης αργύρου (τροποποιημένη GMS) περιλαμβάνει ένα σταθερό άλας μεθenaμίνης αργύρου εργασίας μαζί με ρυθμιστικό διάλυμα, αντιδραστήριο χρωματισμού (toning) και υγρό εμφάνισης (developer). Αυτό παρέχει στο εργαστήριο ένα μοναδικό πακέτο για την οπτικοποίηση μυκήτων, βασικής μεμβράνης και ευκαιριακών οργανισμών.³⁻⁵ Περιλαμβάνεται μια εφαρμογή για ταχεία χρώση με χρήση φούρνου μικροκυμάτων.³⁻⁶

Εν συντομία, οι πολυσακχαρίτες του μικροβιακού κυτταρικού τοιχώματος και της βασικής μεμβράνης οξειδώνονται σε αλδεϋδες μέσω επεξεργασίας με περιοδικό οξύ. Η αλδεϋδική ομάδα, σε αλκαλικό pH, ανάγει τα ιόντα αργύρου σε μεταλλικό άργυρο. Η έκπλυση με άλατα χρυσού σχηματίζει ένα πιο σταθερό σύμπλοκο χρυσού και η περίσσεια αργύρου απομακρύνεται με πλύση με θειοθειικό άλας.

Αντιδραστήρια

Διάλυμα περιοδικού οξέος (αρ. καταλόγου HT1001-100ML)
Περιοδικό οξύ, 1 g/dL, σε αποιονισμένο νερό

Διάλυμα βόρακα (αρ. καταλόγου HT1002-100ML)
Βόρακα, 5 g/dL, σε αποιονισμένο νερό. Κίνδυνος. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

Μεθenaμίνη αργύρου (αρ. καταλόγου HT1003-1VL, HT1003-6VL)
Μεθenaμίνη αργύρου, 110 mg/φιαλίδιο. Κίνδυνος. Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργικά συμπτώματα ή συμπτώματα δόσματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Υποποτι για πρόκληση καρκίνου.

Διάλυμα χλωριούχου χρυσού (αρ. καταλόγου HT1004-100ML)
Χλωριούχος χρυσός, 200 mg/dL, σε αποιονισμένο νερό.

Διάλυμα θειοθειικού νατρίου (αρ. καταλόγου HT1005-100ML)
Θειοθειικό νάτριο, 2 g/dL, σε αποιονισμένο νερό.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Πλαστική λαβίδα ή μεταλλική λαβίδα επικαλυμμένη με παραφίνη.
- Θετικές αντικειμενοφόροι πλάκες ελέγχου, όπως Fungi TISSUE-TROL™ (αρ. καταλόγου TTR004) θα πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση.

Αντιχρώσεις (προαιρετικές)

(η επιλογή εξαρτάται από το δείγμα και τις ατομικές προτιμήσεις)

- Διάλυμα ταρτραζίνης, αρ. καταλόγου HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Διάλυμα αιματοξυλίνης Harris, αρ. καταλόγου HHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2,5L, HHS128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, αλκοολικό, αρ. καταλόγου HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2,5L, HT1101128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, υδατικό, αρ. καταλόγου HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2,5L, HT1102128-4L]
- Διάλυμα ηωσίνης Y, αλκοολικό με φλοξίνη, αρ. καταλόγου HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2,5L, HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Για τυπική διαδικασία μόνο:

- Υδρόλυτρο, 62 °C

Για διαδικασία μικροκυμάτων μόνο:

- Πλαστικά δοχεία Corlin με καπάκι
- Φούρνος μικροκυμάτων

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα περιοδικού οξέος, το αντιδραστήριο μεθenaμίνης αργύρου εργασίας, το διάλυμα χλωριούχου χρυσού και το διάλυμα θειοθειικού νατρίου σε ψυγείο (2–8 °C).

Φυλάσσετε το διάλυμα βόρακα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Ο βόρακας μπορεί να σχηματίσει ίζημα κατά τη διάρκεια της ψύξης. Φέρτε σε θερμοκρασία δωματίου και διαλύστε εκ νέου πριν από τη χρήση.

Οι ετικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρουν την ημερομηνία λήξης.

Παρασκευή

Παρασκευάστε το διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας συνδυάζοντας 8 mL διαλύματος βόρακα, 100 mL αποιονισμένου νερού και το περιεχόμενο ενός φιαλιδίου αντιδραστηρίου μεθenaμίνης αργύρου. Αναμείξτε μέχρι να διαλυθούν. Χρησιμοποιήστε μία φορά και στη συνέχεια απορρίψτε.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Μην αφήνετε το διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας να έρθει σε επαφή με μέταλλα.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Για να αυξηθούν οι δοκιμές ανά φιαλίδιο σε δύο, η μεθenaμίνη αργύρου μπορεί να διαλυθεί σε 100 mL αποιονισμένου νερού και να αποθηκευτεί με ερμητικά κλειστό καπάκι. Το διάλυμα αυτό παραμένει σταθερό σε ψύξη (2–8 °C) για 1 μήνα. Όταν είστε έτοιμοι για χρήση, πάρτε 50 mL ενός διαλύματος μεθenaμίνης αργύρου και προσθέστε 4 mL διαλύματος βόρακα. Επιστρέψτε το χρησιμοποιημένο μέρος του διαλύματος μεθenaμίνης αργύρου στο ψυγείο. Προθερμάνετε όλα τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Προφυλάξεις

Τα βοηθήματα IVD που περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ προορίζονται για *in vitro* διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκοπία και άλλον εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από μικροσκοπία.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνήθειες προφυλάξεων κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες ελέγχου Fungi TISSUE-TROL™ είναι εγκλεισμένοι σε παραφίνη ζωικών ιστών που περιέχει μύκητες και θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικός.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά μολυσματικά.

Μύκητες και ευκαιριακοί οργανισμοί όπως *P. carinii*

Μονιμοποιήστε σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης ή διάλυμα Bouin, εγκλείστε σε παραφίνη και κόψτε τομές 5 micron.¹

Βασική μεμβράνη

Μονιμοποιήστε σε 10% ουδέτερο ρυθμιστικό διάλυμα φορμαλίνης, διάλυμα Bouin ή Zenker και κόψτε τομές παραφίνης 1–4 micron.¹

Σημειώσεις

Τα σκεύη χρώσης πρέπει να πλένονται με συμπυκνωμένο υγρό καθαρισμού υάλινων σκευών εργαστηρίου Dishbite, αρ. καταλόγου S4107, στη συνέχεια με διάλυμα χλωρίνης, για ξεπλύνονται καλά σε νερό βρύσης και στη συνέχεια σε τουλάχιστον 6 αλλαγές αποιονισμένου νερού.

Εάν χρησιμοποιείται φούρνος μικροκυμάτων, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο κατόχου για οδηγίες.

Τυπική διαδικασία

1. Παρασκευάστε διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας όπως περιγράφεται στην ενότητα «Παρασκευή» και τοποθετήστε το σε υδατόλουτρο 62 °C.
2. Αποπαραφινώστε τις τομές ιστού και ενυδατώστε εκ νέου σε αποιονισμένο νερό.
3. Τοποθετήστε τις επανενυδατωμένες τομές σε διάλυμα περιοδικού οξέος για **5 Λεπτά** για μύκητες και ευκαιριακούς οργανισμούς ή **11 Λεπτά** για βασική μεμβράνη.
4. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες και ξεπλύνετε σε 6 αλλαγές αποιονισμένου νερού.
5. **Για την ανίχνευση μυκήτων και ευκαιριακών οργανισμών**, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε προθερμασμένο διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας. Εξετάστε μικροσκοπικά μετά από 20 λεπτά. Οι μύκητες και οι ευκαιριακοί οργανισμοί πρέπει να έχουν σκούρο καφέ χρώμα σε ανοιχτό κίτρινο υπόβαθρο.
Για την ανίχνευση βασικής μεμβράνης, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε προθερμασμένο διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας. Εξετάστε μικροσκοπικά μετά από 30 λεπτά. Η βασική μεμβράνη πρέπει να είναι μαύρη σε σκούρο κίτρινο-καφέ υπόβαθρο.
6. **ΣΗΜΕΙΩΣΗ:** Κατά την επώση τομών στους 62 °C, τοποθετήστε ένα δοχείο Corlin που περιέχει αποιονισμένο νερό σε υδατόλουτρο 62 °C. Χρησιμοποιήστε αυτό το νερό για έκπλυση πριν από την αξιολόγηση στο Βήμα 5. Εξετάστε τις τομές μικροσκοπικά για επαρκή χρώση στα καθορισμένα χρονικά διαστήματα. Επιστρέψτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες στο ζεστό διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή ένταση.
6. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες από το διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας αφού επιτευχθεί επαρκής δομική χρώση και ξεπλύνετε 6 φορές σε αποιονισμένο νερό σε θερμοκρασία δωματίου.
7. Προβείτε σε χρωματισμό των τομών σε διάλυμα χλωριούχου χρυσού για **30 δευτερόλεπτα**.
8. Ξεπλύνετε με αποιονισμένο νερό σε θερμοκρασία δωματίου 6 φορές.
9. Τοποθετήστε τις τομές σε διάλυμα θειοθειικού νατρίου για **2 Λεπτά**.
10. Πλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
11. Αντιχρωματίστε ανάλογα με την προσωπική προτίμηση με διάλυμα ταρτραζίνης, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, διάλυμα αιματοξυλίνης Harris ή διάλυμα ηωσίνης Y.
12. Αφυδατώστε σε αλκοόλη, διαυγάστε σε ξυλένιο, καλύψτε και εξετάστε μικροσκοπικά.

Διαδικασία μικροκυμάτων

1. Αποπαραφινώστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες και ενυδατώστε σε αποιονισμένο νερό.
2. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** διαλύματος περιοδικού οξέος που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin. Καλύψτε χαλαρά το δοχείο Corlin με καπάκι πριν το τοποθετήσετε στον φούρνο μικροκυμάτων ή χρησιμοποιήστε δοχεία Corlin με οπές στα καπάκια. Εφαρμόστε μικροκύματα στα **800 watt** για **10 δευτερόλεπτα**. ***Το διάλυμα περιοδικού οξέος μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί εάν χρησιμοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για **5 Λεπτά** αντί για φούρνο μικροκυμάτων. ***Για βασικές μεμβράνες, ο χρόνος επώσεως του διαλύματος περιοδικού οξέος είναι **11 Λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου**.
3. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες από το διάλυμα περιοδικού οξέος και ξεπλύνετε σε 6 αλλαγές αποιονισμένου νερού.
4. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε **40 mL** διαλύματος μεθenaμίνης αργύρου εργασίας που περιέχεται σε πλαστικό δοχείο Corlin.
5. **Για μυκητιασικούς οργανισμούς** εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **35 δευτερόλεπτα**. Αναμείξτε ήπια το διάλυμα με πιπέτα Beral ή στελέω εφαρμογής. Αφήστε να επωαστεί για **2–3 Λεπτά**. Μετά από μέγιστο διάστημα **2 έως 3 Λεπτών**, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε ζεστό αποιονισμένο νερό και ελέγξτε την ανάπτυξη μικροσκοπικά. Εάν οι οργανισμοί δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς, επιστρέψτε τις αντικειμενοφόρους στο διάλυμα μεθenaμίνης αργύρου εργασίας και αφήστε να παραμείνουν για **30 δευτερόλεπτα** έως **1 Λεπτό** ή έως ότου επιτευχθεί ο επιθυμητός τόνος.

- Για βασική μεμβράνη**, εφαρμόστε μικροκύματα στα **600 watt** για **35 δευτερόλεπτα**. Αναδεύστε ήπια το διάλυμα. Αφήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες να επωαστούν για **5 λεπτά**. Εφαρμόστε μικροκύματα για δεύτερη φορά στα **600 watt** για **10 δευτερόλεπτα**. Αφήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες να αναπτυχθούν για **2 λεπτά**. Ελέγξτε τις αντικειμενοφόρους πλάκες μικροσκοπικά. Εάν οι αντικειμενοφόροι πλάκες δεν έχουν αναπτυχθεί επαρκώς, επαναλάβετε το τελευταίο βήμα έως ότου επιτευχθεί ο επιθυμητός τόνος.
- Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε 6 αλλαγές απιονισμένου νερού.
 - Προβείτε σε χρωματισμένη των αντικειμενοφόρων πλακών σε διάλυμα χλωριούχου χρυσού για **30 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία δωματίου**.
 - Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε 6 αλλαγές απιονισμένου νερού.
 - Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε διάλυμα θειοθειικού νατρίου για **2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου**.
 - Πλύνετε καλά σε τρεχούμενο νερό βρύσης.
 - Αντιχρωματίστε ανάλογα με την προσωπική προτίμηση με Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, διάλυμα ταρταζίνης ή διάλυμα αιματοξυλίνης ή διάλυμα ηωσίνης Y.
 - Αφυδατώστε σε αλκοόλη, διυσιγάστε σε ξηλόνιο, καλύψτε και εξετάστε μικροσκοπικά.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Στοχευόμενη δομή	Αποτέλεσμα χρώσης
Μύκητες	Μοβ-καφέ έως μαύρο
Ευκαιριακοί οργανισμοί	Μοβ-καφέ έως μαύρο
Βασική μεμβράνη	Μαύρο
Υπόβαθρο	Εξαρτάται από την αντίχρωση

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
HT1001	Διάλυμα περιοδικού οξέος	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1002	Διάλυμα βόρακα	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1003	Μεθεναμίνη αργύρου	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1004	Διάλυμα χλωριούχου χρυσού	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
HT1005	Διάλυμα θειοθειικού νατρίου	Μυκητιασικοί οργανισμοί	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφάλειας.

HT100A:



- H271: Μπορεί να προκαλέσει πυρκαγιά ή έκρηξη, ισχυρό οξειδωτικό.
- H302: Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H314: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H317: Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
- H334 Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής.
- H351: Ύποπτο για πρόκληση καρκίνου.
- 360FD: Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα. Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.
- H373: Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα (θυρεοειδής) ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.
- H412: Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.
- P210: Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.
- P273: Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.
- P280: Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P303 + P361 + P353: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.
- P304 + P340 + P310: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.
- P305 + P351 + P338: ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας
	Υποδεικνύει τον Εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για την τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2022
Αναθ. 6.0	2022
Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προβλεπόμενη χρήση. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανειμπύμητα συμβάντα. Προστέθηκε η ενότητα Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι.	
Αναθ. 7.0	2025
Ενημερώθηκε η σύμβαση ονοματοδοσίας. Αναθεωρήθηκε η δήλωση προβλεπόμενης χρήσης. Αφαιρέθηκαν αναφορές σε συγκεκριμένους οργανισμούς. Προστέθηκαν τα στοιχεία CH-REP και του εισαγωγέα.	

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Το αρχικό γράμμα M, το TISSUE-TROL και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany ή των συνδεδεμένων με αυτήν εταιρειών. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω δημοσίων προσβάσιμων πόρων.

Sigma-Aldrich®

Használati utasítás

Ezüst festék (módosított GMS) készlet

HT100 sz. eljárás

Millipore
Sigma

Rendeltetésszerű használat

Az Ezüst festék (módosított GMS) készlet a gombák, a bazális membrán és egyes opportunistáknak szöveti kimutatására szolgál. Az Ezüst festék (módosított GMS) készlet „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok segítségével azonosíthatók a humán szövetmintákban lévő gombák, bazális membránok és néhány opportunistáknak mikroorganizmusok. Ezek az adatok más diagnosztikai tesztekkel és információkkal együtt vizsgálva felhasználhatók a gombás fertőzések diagnosztikájához.

Az ezüst-meténamin-borát eljárások jól dokumentáltak.^{1,2} Ezek általában bonyolult oldatelőkészítést igényelnek a teszt elvégzése előtt. Az oldat stabilitása korlátozott, és az eredmények a fém impregnálás és a fényképezési előhívás kiszámíthatatlan volta miatt jelentősen változnak.

Az Ezüst festék (módosított GMS) készlet stabil ezüst-meténamin-só munkareagenst, valamint puffert, tonizáló reagenst és előhívószert tartalmaz. Ez egyedülálló csomagot biztosít a laboratórium számára a gombák, a bazális membrán és az opportunistáknak szöveti vizualizálásához.³⁻⁵ Tartalmaz egy alkalmazást a mikrohullámú sütőben végzett gyorsfestéshez.³⁻⁶

Röviden, a mikrobiális sejtfalban és a bazális membránban lévő poliszacharidok perjódssavval történő kezeléssel aldehidekké oxidálódnak. Az aldehidcsoport lúgos pH-n fémüsttű redukálja az ezüstiont. Az aranyssókkal való öblítés stabilabb aranykomplexet képez, a felesleges ezüstöt pedig tiosulfátos mosással távolítják el.

Reagensek

Perjódssav oldat (kat. sz.: HT1001-100ML)

Perjódssav, 1 g/dl, ioncserélt vízben

Bórax oldat (kat. sz.: HT1002-100ML)

Bórax, 5 g/dl, ioncserélt vízben. Veszély. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Ezüst-meténamin (kat. sz.: HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Ezüst-meténamin, 110 mg/üveg. Veszély. Lenyelve ártalmas. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Feltehetően rákot okoz.

Arany-klorid oldat (kat. sz.: HT1004-100ML)

Arany-klorid, 200 mg/dl, ioncserélt vízben.

Nátrium-tiosulfát oldat (kat. sz.: HT1005-100ML)

Nátrium-tiosulfát, 2 g/dl, ioncserélt vízben.

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Műanyag csipesz vagy paraffinnal bevont fém csipesz.
- Minden futtatásba be kell vonni pozitív kontroll tárgylemezeket, mint például a Fungi „TISSUE-TROL™” (kat. sz.: TTR004).

Ellenfestések (opcionális)

(a választás a mintától és az egyéni preferenciáktól függ)

- Tartrazinoldat, kat. sz.: HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris hematoxilin oldat, kat. sz.: HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozin Y oldat, alkoholos, kat. sz.: HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozin Y oldat, vizes, kat. sz.: HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozin Y oldat, alkoholos, Phloxine festékkel, kat. sz.: HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Gyors zöld FCF
- Világoszöld SF sárgás

Kizárólag standard eljárás:

- Vízfürdő, 62 °C

Kizárólag mikrohullámú eljárás:

- Műanyag küvetták fedővel
- Mikrohullámú sütő

Tárolás és stabilitás

A perjódssav oldatot, az ezüst-meténamin munkareagenst, az arany-klorid oldatot és a nátrium-tiosulfát oldatot hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni.

A bórax oldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. MEGJEGYZÉS: A bórax oldatban hűtés során csapadék keletkezhet. Használat előtt hagyni kell szobahőmérsékletre melegedni és vissza kell oldani.

A lejárati idő a reagenscímkéken szerepel.

Előkészítés

Az ezüst-meténamin munkoldat elkészítéséhez 8 ml bórax oldathoz adjon 100 ml ioncserélt vizet és egy ezüst-meténamin oldatos üveg tartalmát. Feloldódásig keverje. Egyszer használja, majd dobja ki.

MEGJEGYZÉS: Ne hagyja, hogy az ezüst-meténamin munkoldat fémekkel érintkezzen.

MEGJEGYZÉS: Az injekciós üvegenkénti tesztek kettőre növeléséhez az ezüst-meténamin feloldható 100 ml ioncserélt vízben, és szorosan lezárva tárolható. Ez az oldat hűtőszekrényben (2–8 °C) tárolható 1 hónapig. Amikor készen áll a felhasználásra, mérjen be 50 ml ezüst-meténamin oldatot és adjon hozzá 4 ml bórax oldatot. Tegye vissza az ezüst-meténamin oldat megmaradt részét a hűtőszekrénybe.

Használat előtt melegítse elő szobahőmérsékletre az összes reagenst.

Óvintézkedések

A készletben található *in vitro* diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich *in vitro* diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színezékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagensek kezelése során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékok a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A Fungi TISSUE-TROL™ kontroll tárgylemezeket paraffinba ágyazott, gombokat tartalmazó állati szövetek találhatók, amelyeket potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérkészítményt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Gombok és opportunistáknak szöveti kimutatásához, például *P. carinii*

Fixálja 10%-os semleges pufferelt formalinban vagy Bouin-féle oldatban, ágyazza be paraffinba, és készítsen 5 mikronos metszeteket.¹

Bazális membrán

Fixálja 10%-os semleges pufferelt formalinban, Bouin-féle vagy Zenker-féle oldatban, és készítsen 1–4 mikronos paraffinmetszeteket.¹

Megjegyzések

A festőedényeket Dishbrite folyékony laboratóriumi üvegáru tisztító koncentráttal (kat. sz.: S4107), majd fehérítő oldattal, csapvízzel, ezután pedig legalább 6-szor váltott ioncserélt vízzel jól ki kell öblíteni.

Mikrohullámú sütő használata esetén az utasításokat lásd a használati útmutatóban.

Standard eljárás

- Készítsen ezüst-meténamin munkoldatot az „Előkészítés” szakaszban leírtak szerint, és helyezze 62 °C-os vízfürdőbe.
- Deparaffinálja, majd rehidratálja a szövetmetszeteket ioncserélt vízzel.
- Helyezze a rehidrált metszeteket perjódssav oldatba **5 perc**re gombák és opportunistáknak szöveti kimutatásához, illetve **11 perc**re bazális membrán esetén.
- Vegye ki a tárgylemezeket, és öblítse 6-szor váltott ioncserélt vízzel.
- Gombok és opportunistáknak szöveti kimutatásához** helyezze a tárgylemezeket előmelegített ezüst-meténamin munkoldatba. 20 perc elteltével vizsgálja meg mikroszkóp alatt. A gomboknak és az opportunistáknak szöveti kimutatásához sötétbarnának kell lenniük halványsárga háttér előtt.
- A bazális membrán kimutatásához** helyezze a tárgylemezeket előmelegített ezüst-meténamin munkoldatba. 30 perc elteltével vizsgálja meg mikroszkóp alatt. A bazális membránnak feketének kell lennie sötét sárgásbarna háttér előtt.
- MEGJEGYZÉS:** Miközben a metszeteket 62 °C-on inkubálja, helyezzen egy ioncserélt vizet tartalmazó küvettát a 62 °C-os vízfürdőbe. Használja ezt a vizet az 5. lépésben történő kiértékelés előtti öblítéshez. Mikroszkóp alatt vizsgálja meg a metszeteket a megfelelő festődés szempontjából a megadott időközönként. A tárgylemezeket a kívánt intenzitás eléréseig helyezze vissza a meleg ezüst-meténamin munkoldatba.
- A megfelelő strukturális festődés elérése után vegye ki a tárgylemezeket az ezüst-meténamin munkoldatból, és öblítse 6-szor szobahőmérsékletű ioncserélt vízzel.
- Tonizálja a metszeteket arany-klorid oldatban **30 másodperc**ig.
- Öblítse szobahőmérsékleten 6-szor ioncserélt vízzel.
- Helyezze a metszeteket **2 perc**re nátrium-tiosulfát oldatba.
- Alaposan mossa folyó csapvízzel.
- Személyes preferencia szerint végezzen ellenfestést tartrazin-, Gyors zöld FCF, Világoszöld SF sárgás, Harris hematoxilin oldattal vagy Eozin Y oldattal.
- Dehidratálja alkohollal, derítse xilolban, fixálja és vizsgálja meg mikroszkóp alatt.

Mikrohullámú eljárás

- Deparaffinálja, majd hidratálja a tárgylemezeket ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettába, **40 ml** perjódssav oldatba. A mikrohullámú sütőbe helyezés előtt lazán fedje le a küvettát fedővel, vagy használjon olyan küvettákat, amelyek fedele lyukakkal van ellátva. Melegítse mikrohullámú sütőben **800 watton 10 másodperc**ig. ***A perjódssavas oldat újra felhasználható, ha mikrohullámú kezelés helyett szobahőmérsékleten **5 perc**ig használjuk. ***A bazális membránok esetében a perjódssavas oldat inkubációs ideje **11 perc szobahőmérsékleten**.
- Vegye ki a tárgylemezeket a perjódssav oldatból, és öblítse 6-szor váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket műanyag küvettába, **40 ml** ezüst-meténamin munkoldatba.
- Gomba szöveti kimutatásához** melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 35 másodperc**ig. Óvatosan keverje az oldatot a transzferpipettával vagy applikátorpálcával. Inkubálja **2–3 perc**ig. Legfeljebb **2–3 perc** elteltével helyezze a tárgylemezeket meleg ioncserélt vízbe, és ellenőrizze az előhívást mikroszkóp alatt. Ha az organizmusok nincsenek eléggé előhívva (a színük nem elég intenzív), tegye vissza a tárgylemezeket az ezüst-meténamin munkoldatba, és hagyja állni **30 másodperc** és **1 perc** közötti ideig vagy a kívánt tónus eléréseig.

Bazális membrán esetén melegítse mikrohullámú sütőben **600 watton 35 másodperc**ig. Óvatosan kevertesse az oldatot. Inkubálja a tárgylemezeket **5 perc**ig. Melegítse másodszor is mikrohullámú sütőben **600 watton 10 másodperc**ig. Hívja elő a tárgylemezeket **2 perc**ig. Ellenőrizze a tárgylemezeket mikroszkóp alatt. Ha a tárgylemezek nincsenek eléggé előhívva (a színük nem elég intenzív), ismételje meg az utolsó lépést a kívánt tónus eléréseig.

- Öblítse a tárgylemezeket 6-szor váltott ioncserélt vízzel.
- Tonizálja a tárgylemezeket arany-klorid oldatban **30 másodperc**ig szobahőmérsékleten.
- Öblítse a tárgylemezeket 6-szor váltott ioncserélt vízzel.
- Helyezze a tárgylemezeket nátrium-tiosulfát oldatba **2 perc**re szobahőmérsékleten.
- Alaposan mossa folyó csapvízzel.
- Személyes preferencia szerint végezzen ellenfestést Gyors zöld FCF, Világoszöld SF sárgás, tartrazin-, Harris hematoxilin oldattal vagy Eozin Y oldattal.
- Dehidratálja alkohollal, derítse xilolban, fixálja és vizsgálja meg mikroszkóp alatt.

Teljesítményjellemzők

Célstruktúra	Festési eredmény
Gombák	Lilás-barnától a feketéig
Opportunistá organizmusok	Lilás-barnától a feketéig
Bazális membrán	Fekete
Háttér	Az ellenfestéktől függ

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenységet, specificitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
HT1001	Perjódsv oldat	Gomba organizmu-sok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1002	Bóráx oldat	Gomba organizmu-sok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1003	Ezüst-meténamin	Gomba organizmu-sok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1004	Arany-klorid oldat	Gomba organizmu-sok	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1005	Nátrium-tioszulfát oldat	Gomba organizmu-sok	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

HT100A:



H271: Tüzet vagy robbanást okozhat; erősen oxidáló hatású.

H302: Lenyelve ártalmas.

H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.

H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H334 Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat.

H351: Feltehetően rákot okoz.

360FD: Károsíthatja a termékenységet. Károsíthatja a születendő gyermeket.

H373: Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket (pajzsmirigy).

H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P210: Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P305 + P351 + P338: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Folytassa az öblítést.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos váratlan esemény történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságnak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Lejáratí dátum		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr
	Meghatalmazott képviselő Svájcban		

Hivatkozások

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopits, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com. Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com/techservice.

Átdolgozási előzmények

4.0 átd.	2016
5.0 átd.	2022
6.0 átd.	2022
Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnosizhoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek szakasz hozzáadása.	
7.0 átd.	2025
Az elnevezési konvenció frissítése. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása. A konkrét organizmusokra való hivatkozások eltávolítása. CH-REP és importőr információk hozzáadása.	

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Az „M” kezdőbetű, a TISSUE-TROL és a Sigma-Aldrich a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) vagy leányvállalatainak védjegyei. Minden egyéb védjegy a megfelelő tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekre vonatkozó részletes információk nyilvánosan hozzáférhető forrásokon keresztül érhetők el.

Sigma-Aldrich®

Návod k použití

Souprava pro barvení stříbrem (modifikované GMS)

Postup č. HT100



Určené použití

Souprava pro barvení stříbrem (modifikované GMS) slouží k histologickému prokazování hub, bazální membrány a některých oportunních organismů. Souprava pro barvení stříbrem (modifikované GMS) je určena „diagnostickému použití *in vitro*“. Pouze k profesionálnímu použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu identifikují houby, bazální membránu a některé oportunní organismy ve vzorcích tkáně z lidských vzorků. Tyto údaje mohou být při přezkoumání ve spojení s dalšími diagnostickými testy a informacemi použity jako pomůcka při diagnostice infekcí způsobených houbami.

Postupy barvení využívající borát methenaminu stříbra a stříbro jsou dobře zdokumentovány.^{1,2} Obecně řečeno vyžadují před provedením testu složitou přípravu roztoku. Stabilita roztoku je omezená a výsledky se značně liší v důsledku proměnlivého charakteru impregnace kovů a vyvolávání fotografických obrazů.

Souprava pro barvení stříbrem (modifikované GMS) zahrnuje stabilní pracovní sůl methenaminu stříbra s pufrem, tonizačním činidlem a vývojkou. Laborať tak získává unikátní sadu pro vizualizaci hub, bazální membrány a oportunních organismů.³⁻⁵ Součástí soupravy je i aplikace pro rychlé barvení s využitím mikrovlnné trouby.³⁻⁶

Stručně lze říci, že polysacharidy mikrobiální buněčné stěny a bazální membrány oxidují působením kyseliny jodisté na aldehydy. Aldehydová skupina při zásadité hodnotě pH redukuje stříbrný iont na kovové stříbro. Proplachováním solemi zlata vzniká stabilnější komplex zlata a promýváním thiosíranem je poté odstraněno přebytečné stříbro.

Činidla

Roztok kyseliny jodisté (kat. č. HT1001-100ML)
Kyselina jodistá, 1 g/dl, v deionizované vodě

Roztok boraxu (kat. č. HT1002-100ML)
Borax, 5 g/dl, v deionizované vodě. Nebezpečí. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Použijte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.

Methenamin stříbra (kat. č. HT1003-1VL, HT1003-6VL)
Methenamin stříbra, 110 mg/lahvička. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Při vdechování může způsobit příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. Podezření na karcinogenní účinky.

Roztok chloridu zlatného (kat. č. HT1004-100ML)
Chlorid zlatný, 200 mg/dl, v deionizované vodě.

Roztok thiosíranu sodného (kat. č. HT1005-100ML)
Thiosíran sodný, 2 g/dl, v deionizované vodě.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Plastová pinzeta nebo kovová pinzeta s parafinovým povlakem.
- V každé zkoušce musí být zařazeny pozitivní kontrolní preparáty jako např. Fungi TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR004).

Kontrastní barviva (volitelná)

(výběr se odvíjí od vzorku a individuálních preferencí)

- Roztok tartrazinu, kat. č. HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Roztok Harrisova hematoxylinu, kat. č. HHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2.5L, HHS128-4L]
- Roztok eosinu Y, alkoholový, kat. č. HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2.5L, HT1101128-4L]
- Roztok eosinu Y, vodný, kat. č. HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2.5L, HT1102128-4L]
- Roztok eosinu Y, alkoholový, s floxinem, kat. č. HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2.5L, HT1103128-4L]
- Rychlá zeleň FCF
- Světlá zeleň SF nažloutlá

Pouze pro standardní postup:

- Vodní lázeň, 62 °C

Pouze pro mikrovlnný postup:

- Plastové Coplinovy nádoby s víčky
- Mikrovlnná trouba

Skladování a stabilita

Roztok kyseliny jodisté, pracovní roztok methenaminu stříbra, roztok chloridu zlatného a roztok thiosíranu sodného skladujte v chladu (2–8 °C).

Roztok boraxu skladujte při pokojové teplotě (18–26 °C). POZNÁMKA: V boraxu se při chlazení mohou tvořit sraženiny. Před použitím jej zahřejte na pokojovou teplotu.

Na štítcích činidel je uvedeno datum spotřeby.

Příprava

Připravte pracovní roztok methenaminu stříbra smícháním 8 ml roztoku boraxu, 100 ml deionizované vody a obsahu jedné lahvičky methenaminu stříbra. Roztok míchejte, dokud se vše zcela nerozpustí. Roztok použijte jednou a poté zlikvidujte.

POZNÁMKA: Dbejte na to, aby se pracovní roztok methenaminu stříbra nedostal do styku s kovy.

POZNÁMKA: Je-li třeba zvýšit počet zkoušek na jednu lahvičku na dvě, je možné methenamin stříbra rozpustit ve 100 ml deionizované vody a uchovávat v pevně uzavřené nádobě. V chladu (2–8 °C) je roztok stabilní po dobu 1 měsíce. Před použitím odeberte 50 ml roztoku methenaminu stříbra a přidejte 4 ml roztoku boraxu. Nepoužitou část roztoku methenaminu stříbra vraťte do chladničky. Před použitím zahřejte všechna činidla na pokojovou teplotu.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* obsažené v této soupravě jsou určeny k diagnostickému použití *in vitro* v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky *in vitro* Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Kontrolní preparáty Fungi TISSUE-TROL™ jsou tvořeny lidskou tkání zalitou v parafínu obsahující houby a je třeba je považovat za potenciálně infekční.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Houby a oportunní organismy jako *P. carinii*

Fixujte v 10% neutrálním pufovaném formalínu nebo Bouinově roztoku, vložte do parafínu a zhotovte řezy o tloušťce 5 mikronů.¹

Bazální membrána

Fixujte v 10% neutrálním pufovaném formalínu nebo v Bouinově či Zenkerově roztoku a zhotovte parafinové řezy o tloušťce 1–4 mikronů.¹

Poznámky

Barvicí misky je nutno umýt tekutým koncentrátem na čištění laboratorního skla Dishbrite, kat. č. S4107, a poté bělicím roztokem, dobře opláchnout kohoutkovou vodou a poté nejméně 6x vyměněnou deionizovanou vodou.

Pokud se používá mikrovlnná trouba, projděte si pokyny v příručce vlastníka.

Standardní postup

1. Připravte pracovní roztok methenaminu stříbra podle postupu v odstavci „Příprava“ a vložte jej do vodní lázně o teplotě 62 °C.
2. Odparafinujte tkáňové řezy a rehydratujte je deionizovanou vodou.
3. Vložte rehydratované řezy do roztoku kyseliny jodisté na dobu **5 minut** (houby a oportunní organismy) resp. **11 minut** (bazální membrána).
4. Poté sklička vyjměte a opláchněte 6x vyměněnou deionizovanou vodou.
5. **V případě prokazování hub a oportunních organismů** vložte sklička do předeřhátého pracovního roztoku methenaminu stříbra. Po 20 minutách proveďte mikroskopické vyšetření. Houby a oportunní organismy by měly být tmavě hnědé na světle žlutém pozadí. **V případě prokazování bazální membrány** vložte sklička do předeřhátého pracovního roztoku methenaminu stříbra. Po 30 minutách proveďte mikroskopické vyšetření. Bazální membrána by měla být černá na tmavě žluto-hnědém pozadí. **POZNÁMKA:** Během inkubace řezů při teplotě 62 °C vložte Coplinovu nádobu s deionizovanou vodou do vodní lázně o teplotě 62 °C. Tuto vodu pak použijte k opláchnutí před vyhodnocením v kroku 5. Provádějte v uvedených intervalech mikroskopické vyšetření řezů, zda jsou dostatečně zbarvené. Vraťte sklička do teplého pracovního roztoku methenaminu stříbra na tak dlouho, abyste dosáhli požadované intenzity.
6. Po dosažení dostatečného strukturního zbarvení vyjměte sklička z pracovního roztoku methenaminu stříbra a 6krát je opláchněte v deionizované vodě o pokojové teplotě.
7. Tónujte řezy po dobu **30 sekund** v roztoku chloridu zlatného.
8. Opláchněte řezy 6x v deionizované vodě o pokojové teplotě.
9. Vložte řezy na **2 minuty** do roztoku thiosíranu sodného.
10. Poté je dobře opláchněte tekoucí kohoutkovou vodou.
11. Proveďte kontrastní barvení podle potřeby roztokem tartrazinu, rychlou zelení FCF, světlou zelení SF (nažloutlou), Harrisovým roztokem hematoxylinu nebo roztokem eosinu Y.
12. Dehydratujte v alkoholu, vyčistěte v xyleny, osadte a proveďte mikroskopické vyšetření.

Mikrovlnný postup

1. Odparafinujte sklička a hydratujte je pomocí deionizované vody.
2. Vložte sklička do **40 ml** roztoku kyseliny jodisté v plastové Coplinově nádobě. Před vložením do mikrovlnné trouby Coplinovu nádobu volně zakryjte víčkem nebo na Coplinovu nádobu použijte víčka s vyvrtanými otvory. Proveďte mikrovlnný ohřev při **800 wattch** po dobu **10 sekund**. ***Roztok kyseliny jodisté lze použít opakovaně, pokud je namísto mikrovlnného ohřevu použit po dobu **5 minut** při pokojové teplotě. ***Pro bazální membrány činí doba inkubace roztoku kyseliny jodisté **11 minut při pokojové teplotě**.
3. Poté sklička vyjměte z roztoku kyseliny jodisté a opláchněte 6x vyměněnou deionizovanou vodou.
4. Vložte sklička do **40 ml** pracovního roztoku methenaminu stříbra v plastové Coplinově nádobě.
5. **V případě houbových organismů** proveďte mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **35 sekund**. Roztok jemně promíchejte pipetou Beral nebo aplikací tyčinkou. Nechte inkubovat **2–3 minuty**. Po nejvýše **2 až 3 minutách** vložte sklička do teplé deionizované vody a zkontrolujte mikroskopicky průběh vyvolávání. Nejsou-li organismy dostatečně vyvolané, vraťte sklička do pracovního roztoku methenaminu stříbra a nechte jej působit po dobu **30 sekund až 1 minuty** nebo dokud není dosaženo požadovaného tónu.

V případě bazální membrány proveďte mikrovlnný ohřev při 600 wattch po dobu 35 sekund.

Opatrně roztok promíchejte. Nechte sklička inkubovat po dobu **5 minut**. Proveďte znovu mikrovlnný ohřev při **600 wattch** po dobu **10 sekund**. Nechte sklička vyvolávat po dobu **2 minut**. Zkontrolujte sklička mikroskopicky. Pokud nejsou sklička dostatečně vyvolaná, opakujte poslední krok, dokud nedosáhnete požadovaného tónu.

6. Opláchněte sklička 6x vyměněnou deionizovanou vodou.
7. Tónujte sklička po dobu **30 sekund** v roztoku chloridu zlatného při **pokojové teplotě**.
8. Opláchněte sklička 6x vyměněnou deionizovanou vodou.
9. Vložte sklička na **2 minuty** do roztoku thiosíranu sodného při **pokojové teplotě**.
10. Poté je dobře opláchněte tekoucí kohoutkovou vodou.
11. Proveďte kontrastní barvení podle potřeby rychlou zelení FCF, světlou zelení SF (nažloutlou), roztokem tartrazinu, Harrisovým roztokem hematoxylinu nebo roztokem eosinu Y.
12. Dehydratujte v alkoholu, vyčistěte v xyleny, osadte a proveďte mikroskopické vyšetření.

Pracovní charakteristiky

Cílová struktura	Výsledek barvení
Houby	Fialovo-hnědá až černá
Oportunní organismy	Fialovo-hnědá až černá
Bazální membrána	Černá
Pozadí	Podle kontrastního barviva

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
HT1001	Roztok kyseliny jodisté	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1002	Roztok boraxu	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1003	Methenamin stříbra	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1004	Roztok chloridu zlatného	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
HT1005	Roztok thiosíranu sodného	Houbové organismy	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a nebezpečí

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

HT100A:



- H271: Může způsobit požár nebo výbuch; silný oxidant.
- H302: Zdraví škodlivý při požití.
- H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.
- H334 může při vdechování způsobit příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.
- H351: Podezření na karcinogenní účinky.
- 360FD: Může poškodit reprodukční schopnost. Může poškodit plod v těle matky.
- H373: Může způsobit poškození orgánů (štítné žlázy) při prodloužené nebo opakované expozici při požití.
- H412: Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P210: Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji hoření. Zákaz kouření.
- P273: Zabráňte uvolňování do životního prostředí.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Pokud během nebo v důsledku používání tohoto prostředku došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobcí nebo jeho autorizovanému zástupci a svému národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symboly definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce
	Označuje autorizovaného zástupce ve Švýcarsku		

Reference

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na SigmaAldrich.com. Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce SigmaAldrich.com/techservice.

Historie revizí

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do určeného použití. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidán oddíl varování a nebezpečí.
Rev. 7.0	2025
	Aktualizovaná konvence pro názvosloví. Revidováno prohlášení o určeném použití. Odstraněny odkazy na konkrétní organismy. Přidány informace o zastoupení ve Švýcarsku a dovozci.

Počáteční M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Německo nebo jejich přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Bruksanvisning

Sett med sølvfargestoff (modifisert GMS)

Prosedyrenr. HT100

Millipore
Sigma

Tiltenkt bruk

Settet med sølvfargestoff (modifisert GMS) beregnet for bruk i histologisk demonstrasjon av sopp, basalmembran og noen opportunistiske organismer. Sett med sølvfargestoff (modifisert GMS) er for «*in vitro*-diagnostisk bruk». Kun for profesjonell bruk. Dataene fra denne manuelle, kvalitative prosedyren identifiserer sopp, basalmembran og noen opportunistiske organismer i vevsprøver fra mennesker. Når disse dataene vurderes i forbindelse med andre diagnostiske tester og opplysninger, kan de brukes som et hjelpemiddel til diagnostisering av sopppinfeksjoner.

Prosedyrer med sølv-metenamin-borat er godt dokumentert.^{1,2} Generelt sett krever disse foreseggjort løsningsforberedelse før testgjennomføring. Løsningsstabiliteten er begrenset, og resultatene varierer bemerkelsesverdig på grunn av metallimpregneringens lunefulle natur og fotografisk utvikling.

Settet med sølvfargestoff (modifisert GMS) inneholder et stabilt salt av sølvmetenaminarbeidsløsning sammen med buffer, toningsreagens og utvikler. Dette gir laboratoriet en unik pakke for visualisering av sopp, basalmembran og opportunistiske organismer.³⁻⁵ Det er inkludert en påføring for hurtigfarging ved bruk av en mikrobølgeovn.³⁻⁶

Kort fortalt oksideres mikrobielle cellevegger og basalmembranpolysakkarider til aldehyder ved behandling med perjodsyre. Aldehydgruppen, ved alkalisk pH, reduserer sølvionen til metallisk sølv. Skylling med gullsalter danner et mer stabilt gullkompleks, og overflødig sølv fjernes med en tiosulfatvask.

Reagenser

Perjodsyreløsning (kat.nr. HT1001-100ML)

Perjodsyre, 1 g/dl, i avionisert vann

Boraks (kat.nr. HT1002-100ML)

Boraks, 5 g/dl, i avionisert vann. Fare. Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

Sølv-metenamin (kat.nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Sølv-metenamin, 110 mg/hetleglass. Fare. Farlig ved svelging. Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. Mistenkes for å kunne forårsake kreft.

Gullkloridløsning (kat.nr. HT1004-100ML)

Gullklorid, 200 mg/dl, i avionisert vann.

Natriumtiosulfatløsning (kat.nr. HT1005-100ML)

Natriumtiosulfat, 2 g/dl, i avionisert vann.

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- plasttang eller parafinbelagt metalltang
- Positive kontrollobjektglass, for eksempel Fungi TISSUE-TROL™ (kat.nr. TTR004), bør inkluderes i hver kjøring.

Kontrastfargestoff (valgfritt)

(valg avhenger av prøven og individuelle preferanser)

- Tartrazinløsning, kat.nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris' hematoksylinløsning, kat.nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosin Y-løsning, alkoholholdig, kat.nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosin Y-løsning, vannholdig, kat.nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosin Y-løsning, alkoholholdig, med floksin, kat.nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Kun for standardprosedyre:

- Vannbad, 62°C

Kun for mikrobølgeprosedyre:

- Coplin-krukker av plast med lokk
- Mikrobølgeovn

Oppbevaring og stabilitet

Perjodsyreløsning, sølvmetenaminarbeidsløsning, gullkloridløsning og natriumtiosulfatløsning skal oppbevares nedkjølt (2–8 °C).

Boraksløsningen skal oppbevares ved romtemperatur (18–26 °C). MERK: Boraks kan danne bunnfall under kjøling. Varm opp til romtemperatur og løs opp igjen før bruk.

Reagensetiketter har utløpsdato.

Klargjøring

Forbered sølvmetenaminarbeidsløsning ved å kombinere 8 ml boraksløsning, 100 ml avionisert vann og innholdet i ett hetteglass med sølvmetenamin. Bland til det er oppløst. Bruk én gang, og kast deretter.

MERK: Ikke la sølvmetenaminarbeidsløsning komme i kontakt med metaller.

MERK: For å øke testene per hetteglass til to, kan sølvmetenamin løses opp i 100 ml avionisert vann og oppbevares god lukket. Denne løsningen er stabil når den oppbevares i kjøleskap (2–8 °C) i 1 måned. Når du er klar til å bruke løsningen, tar du 50 ml av en sølvmetenaminløsning og tilsetter 4 ml boraksløsning. Sett ubrukt del av sølvmetenaminløsning tilbake i kjøleskapet. Forvarm alle reagenser til romtemperatur før bruk.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for *in vitro*-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. Sigma-Aldrich-IVD-er kan betjenes av laboratoriepersonell som er opplært i å håndtere humane prøver som kan være smittsomme, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr, og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

Normale forsiktighetsregler for håndtering av laboratorieagenser bør følges. Avfall må kastes i samsvar med alle lokale, statlige, provinsielle eller nasjonale forskrifter.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrollobjektglass er parafinnstøpt animals vev som inneholder sopp, og skal betraktes som potensielt infeksjøst.

Prosedyre

Prøvetaking

Ingen kjent testmetode kan fullt ut forsikre at blodprøver eller vev ikke utgjør en smittefare. Alle blodderivater eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Sopp og opportunistiske organismer som *P. carinii*

Fikser i 10 % nøytralbufret formalin eller Bouins løsning, innstøp i parafin og kutt snitt på 5 mikron.¹

Basalmembran

Fikser i 10 % nøytralbufret formalin, Bouins eller Zenkers løsning og kutt parafinsnitt på 1–4 mikron.¹

Merknader

Fargingsskiver bør vaskes i Dishbrite flytende rengjøringskonsentrat for laboratoriumsglass, kat. nr. S4107, deretter blekemiddelløsning, skylles godt i springvann og deretter i minst 6 utskiftede mengder avionisert vann.

Hvis det brukes mikrobølgeovn, må du følge bruksanvisningen.

Standardprosedyre

- Klargjør sølvmetenaminarbeidsløsning som beskrevet i delen «Klargjøring», og plasser den i vannbad på 62 °C.
- Avparafiniser vevsnittene og rehydrerer til avionisert vann.
- Plasser rehydrerte snitt i perjodsyreløsning i **5 minutter** for sopp og opportunistiske organismer eller **11 minutter** for basalmembran.
- Fjern objektglassene og skyll i 6 utskiftede mengder avionisert vann.
- For demonstrasjon av sopp og opportunistiske organismer** plasserer du objektglassene i forvarmet sølvmetenaminarbeidsløsning. Gjennomfør mikroskopisk undersøkelse etter 20 minutter. Sopp og opportunistiske organismer bør være mørkebrune mot en blek gul bakgrunn. **For demonstrasjon av basalmembran** plasserer du objektglass i forvarmet sølvmetenaminarbeidsløsning. Gjennomfør mikroskopisk undersøkelse etter 30 minutter. Basalmembran skal være svart mot en mørk gul-brun bakgrunn.
- MERK:** Ved inkubering av snitt ved 62 °C plasseres en Coplin-krukke som inneholder deionisert vann, i vannbad på 62 °C. Bruk dette vannet til skylling før evaluering i trinn 5. Undersøk mikroskopisk for tilstrekkelig farging ved angitte intervaller. Returner objektglassene for å varme sølvmetenaminarbeidsløsning inntil ønsket intensitet er oppnådd.
- Fjern objektglassene fra sølvmetenaminarbeidsløsning etter tilstrekkelig strukturell farging er oppnådd, og skyll 6 ganger i romtemperert avionisert vann.
- Ton snittene i gullkloridløsning i **30 sekunder**.
- Skyll i romtemperert avionisert vann 6 ganger.
- Plasser snittene i natriumtiosulfatløsning i **2 minutter**.
- Vask godt i rennende springvann.
- Kontrastfargestoff i henhold til personlig preferanse med tartrazinløsning, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris' hematoksylinløsning eller Eosin Y-løsning.
- Dehydrer i alkohol, klarne i xylene, monter og undersøk mikroskopisk.

Mikrobølgeprosedyre

- Avparafiniser objektglassene og hydrer til avionisert vann.
- Legg objektglassene i **40 ml** perjodsyreløsning i en Coplin-beholder av plast. Dekk Coplin-krukken løst med lokk før du plasserer den i mikrobølgeovn, eller bruk Coplin-krukker med hull boret inn i lokkene. Varm i mikrobølgeovn ved **800 watt i 10 sekunder**. ***Perjodsyreløsning kan gjenbrukes hvis den brukes ved romtemperatur i **5 minutter** i stedet for oppvarming i mikrobølgeovn. ***For basalmembraner er inkubasjonstiden for perjodsyreløsning **11 minutter ved romtemperatur**.
- Fjern lysbilder fra perjodsyreløsningen og skyll i 6 utskiftede mengder avionisert vann.
- Plasser objektglassene i **40 ml** sølvmetenaminarbeidsløsning i en Coplin-krukke i plast.
- For sopporganismer** gjelder oppvarming i mikrobølgeovn ved **600 watt i 35 sekunder**. Bland løsningen forsiktig med en beralpipette eller applikatorpinne. La den inkubere i **2–3 minutter**. Etter maksimalt **2–3 minutter** plasserer du objektglassene i varmt avionisert vann og kontrollerer utviklingen mikroskopisk. Hvis organismer ikke er tilstrekkelig utviklet, plasserer du objektglassene i sølvmetenaminarbeidsløsning igjen og lar dem være der i **30 sekunder** til **1 minutt** eller til ønsket tone oppnås.

For basalmembran, plasser i mikrobølgeovn på **600 watt i 35 sekunder**. Agiter løsningen forsiktig. La objektglassene inkuberes i **5 minutter**. Plasser i mikrobølgeovn for andre gang ved **600 watt i 10 sekunder**. La objektglassene utvikles i **2 minutter**. Kontroller objektglassene mikroskopisk. Hvis objektglassene ikke er tilstrekkelig utviklet, gjentar du siste trinn inntil ønsket tone oppnås.

- Skyll objektglassene i 6 utskiftede mengder avionisert vann.
- Ton snittene i gullkloridløsning i **30 sekunder** ved **romtemperatur**.
- Skyll objektglassene i 6 utskiftede mengder avionisert vann.
- Plasser objektglassene i natriumtiosulfatløsning i **2 minutter** ved **romtemperatur**.
- Vask godt i rennende springvann.
- Kontrastfargestoff i henhold til personlig preferanse med Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartrazinløsning, Harris' hematoksylinløsning eller Eosin Y-løsning.
- Dehydrer i alkohol, klarne i xylene, monter og undersøk mikroskopisk.

Ytelsesegenskaper

Målstruktur	Fargingsresultat
Sopp	Lilla-brun til svart
Opportunistiske organismer	Lilla-brun til svart
Basalmembran	Svart
Bakgrunn	Avhengig av kontrastfargestoff

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene som ble utført på alle målstrukturer, bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat.nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
HT1001	Perjodsyreløsning	Sopporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1002	Boraksløsning	Sopporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1003	Sølvmetenamin	Sopporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1004	Gullkloridløsning	Sopporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
HT1005	Natriumtiosulfatløsning	Sopporganismer	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

HT100A:



H271: Kan forårsake brann eller eksplosjon; sterkt oksiderende.

H302: Farlig ved svelging.

H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.

H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon.

H334 Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding.

H351: Mistenkes for å kunne forårsake kreft.

360FD: Kan skade forplantringsevnen. Kan gi fosterskader.

H373: Kan forårsake organskader (skjoldbruskkjertel) ved langvarig eller gjentatt eksponering ved svelging.

H412: Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

P210: Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningsskilder. Røyking forbudt.

P273: Unngå utslipp til miljøet.

P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsøtte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.

P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.

P305 + P351 + P338: VED PÅFØRING I ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, må det rapporteres til produsenten eller produsentens autoriserte representant og til den nasjonale myndigheten.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisning		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato		In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir den autoriserte representanten i Sveits		

Referanser

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2. utg., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981

- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice) for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Flyttet utsagn om diagnostisk hjelpemiddel til tiltenkt bruk. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. La til delen om advarsler og farer.
Rev. 7.0	2025
	Oppdaterte navnekonvensjonen. Revidert erklæring om tiltenkt bruk. Fjernet referanser til bestemte organismer. La inn informasjon om CH-REP og importør.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initialen M, TISSUE-TROL og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle andre varemerker tilhører de respektive eierne. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Kullanım Talimatları

Gümüş Boya (Modifiye GMS) Kiti

Prosedür No. HT100

Millipore
Sigma

Kullanım Amacı

Gümüş Boya (Modifiye GMS) Kiti; mantar, bazal membran ve bazı fırsatçı organizmaların histolojik gösteriminde kullanım için tasarlanmıştır. Gümüş Boya (Modifiye GMS) Kiti "*In Vitro* Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler insan örneklerinin doku numunelerindeki mantarları, bazal membranı ve bazı fırsatçı organizmaları tanımlar. Bu veriler, diğer tanı amaçlı testler ve bilgilerle birlikte değerlendirildiğinde mantar enfeksiyonlarının tanısında yardımcı olarak kullanılabilir.

Gümüş metenamin-borat prosedürleri iyi düzeyde belgelennmiştir.^{1,2} Genel olarak test gerçekleştirilmeden önce ayrıntılı bir çözelti hazırlığı yapılması gerekir. Çözelti stabilitesi sınırlıdır ve fotografik geliştirme ve metal emprenyenin değişken yapısı nedeniyle sonuçlar önemli düzeyde farklılık gösterir.

Gümüş Boya (Modifiye GMS) Kiti; tampon, tonlama reaktifi ve geliştirici ile birlikte stabil şekilde çalışan gümüş metenamin tuzu içerir. Bu sayede laboratuvar; mantarları, bazal membranı ve fırsatçı organizmaları görselleştirmeye yönelik benzersiz bir paket elde eder.³⁻⁵ Mikrodalga fırın kullanarak hızlı boyama için bir uygulama dahil edilmiştir.³⁻⁶

Özete, mikrobiyal hücre duvarı ve bazal membran polisakaritleri, periyodik asitle işlem yapılarak aldehitlere oksitlenir. Alkalın pH'ta aldehit grubu, gümüş iyonu metalik gümüşe indirger. Altın tuzları ile durulama, daha stabil bir altın kompleksi oluşturur ve fazla gümüş, tıyosülfat yıkaması ile uzaklaştırılır.

Reaktifler

Periyodik Asit Çözeltisi (Kat. No. HT1001-100ML)

Deiyonize suda periyodik asit, 1 g/dL

Boraks Çözeltisi (Kat. No. HT1002-100ML)

Deiyonize suda boraks, 5 g/dL. Tehlike. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

Gümüş Metenamin (Kat. No. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Gümüş metenamin, 110 mg/flakon. Tehlike. Yutulması halinde zararlıdır. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Solunması halinde alerji veya astım semptomlarına ya da solunum güçlüğüne neden olabilir. Kansere neden olabilir.

Altın Klorür Çözeltisi (Kat. No. HT1004-100ML)

Deiyonize suda altın klorür, 200 mg/dL.

Sodyum Tıyosülfat Çözeltisi (Kat. No. HT1005-100ML)

Deiyonize suda sodyum tıyosülfat, 2 g/dL.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Plastik forseps veya parafin kaplı metal forseps.
- Fungi TISSUE-TROL™ (Kat. No. TTR004) gibi pozitif kontrol lamaları her çalışmaya dahil edilmelidir.

Zıt boyalar (isteğe bağlı)

(seçim, numuneye ve kişisel tercihlere bağlıdır)

- Tartrazin Çözeltisi, Kat. No. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris Hematoksilin Çözeltisi, Kat. No. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozin Y Çözeltisi, Alkollü, Kat. No. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozin Y Çözeltisi, Sulu, Kat. No. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozin Y Çözeltisi, Alkollü, Floksinli, Kat. No. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Hızlı Yeşil FCF
- Açık Yeşil SF Sarımsı

Yalnızca Standart Prosedür için:

- Su banyosu, 62°C

Yalnızca Mikrodalga Prosedürü için:

- Kapaklı plastik Coplin kavanozları
- Mikrodalga Fırın

Saklama ve Stabilite

Periyodik Asit Çözeltisi, Çalışma Gümüş Metenamin, Altın Klorür Çözeltisini ve Sodyum Tıyosülfat Çözeltisini soğutarak (2–8°C) saklayın.

Boraks Çözeltisini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. NOT: Boraks, soğutma sırasında çökelti oluşturabilir. Kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin ve yeniden çözdürün.

Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur.

Hazırlama

8 mL Boraks Çözeltisini, 100 mL deiyonize suyu ve bir Gümüş Metenamin flakonunun içeriğini karıştırarak Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisini hazırlayın. Çözünene dek karıştırın. Bir kez kullandıktan sonra atın.

NOT: Gümüş Metenamin Çözeltisinin metallerle temas etmesine izin vermemeyin.

NOT: Flakon başına test sayısını ikiye çıkarmak için Gümüş Metenamin 100 mL deiyonize suda çözündürülüp kapağı sıkıca kapatılarak saklanabilir. Bu çözelti, buzdolabında (2–8°C) 01 ay boyunca stabildir. Kullanıma hazır olduğunuzda 50 mL'lik bir adet Gümüş Metenamin Çözeltisini alıp 4 mL Boraks Çözeltisi ekleyin. Gümüş Metenamin Çözeltisinin kullanılmayan kısmını buzdolabına geri koyun. Tüm reaktifleri kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin.

Önlemler

Bu kitle bulunan IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında *in vitro* tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Fungi TISSUE-TROL™ kontrol lamaları, mantar içeren parafine gömülü hayvan dokusudur ve potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Mantar ve *P. carinii* gibi Fırsatçı Organizmalar

%10 nötr tamponlu formalin veya Bouin Çözeltisinde fiksasyon gerçekleştirin, parafine gömün ve 5 mikronluk kesitler kesin.¹

Bazal Membran

%10 nötr tamponlu formalin, Bouin veya Zenker Çözeltisinde fiksasyon gerçekleştirin ve 1–4 mikronluk parafin kesitleri kesin.¹

Notlar

Boyama kapları, Dishbrite sıvı laboratuvar cam eşyaları temizleme konsantresi, Kat. Np. S4107, ardından ağartma çözeltisinde yıkamalı, musluk suyunu ve ardından en az 6 kez değiştirilen deiyonize suda iyice durulanmalıdır.

Mikrodalga fırın kullanılıyorsa talimatlar için lütfen Kullanım Kılavuzuna bakın.

Standart Prosedür

- "Hızırık" bölümünde açıklandığı şekilde Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisini hazırlayın ve 62°C su banyosuna koyun.
- Kesitleri deparafinize edin ve deiyonize suyla yeniden hidratlayın.
- Yeniden hidratlanmış kesitleri mantar ve fırsatçı organizmalar için **5 dakika** süreyle veya bazal membran için **11 dakika** süreyle Periyodik Asit Çözeltisine koyun.
- Lamaları çıkarın ve 6 kez değiştirilen deiyonize suda durulayın.
- Mantarların ve Fırsatçı Organizmaların Gösterilmesi için** lamaları önceden ılık duruma getirilmiş Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisine koyun. 20 dakika sonra mikroskopik olarak inceleyin. Mantarlar ve fırsatçı organizmalar, açık sarı arka planda koyu kahverengi görünmelidir.
- Bazal Membranın Gösterilmesi için** lamaları önceden ılık duruma getirilmiş Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisine koyun. 30 dakika sonra mikroskopik olarak inceleyin. Bazal membran, koyu sarı ila kahverengi arka planda siyah görünmelidir.
- NOT:** Kesitleri 62°C'de inkübe ederken deiyonize su içeren bir Coplin kavanozunu 62°C su banyosuna koyun. 5. Adımda değerlendirmeden önce durulama işlemi için bu suyu kullanın. Kesitleri belirtilen aralıklarda mikroskopik olarak yeterli boyama olup olmadığını bakımdan inceleyin. İstenen yoğunluk elde edilene dek lamaları ılık Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisine geri koyun.
- Yeterli yapısal boyanma elde edildikten sonra lamaları Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisinden çıkarın ve oda sıcaklığındaki deiyonize suda 6 kez durulayın.
- Kesitleri **30 saniye** süreyle Altın Klorür Çözeltisinde tonlama işlemine tabi tutun.
- Oda sıcaklığında deiyonize suda 6 kez durulayın.
- Kesitleri **2 dakika** süreyle Sodyum Tıyosülfat Çözeltisine koyun.
- Akan musluk suyunu iyice yıkayın.
- Kişisel tercihinize göre Tartrazin Çözeltisi, Hızlı Yeşil FCF, Açık Yeşil SF Sarımsı, Harris Hematoksilin Çözeltisi veya Eozin Y Çözeltisi ile zıt boyama uygulayın.
- Alkolde dehidrasyon uygulayın, ksilende temizleyin, yerleştirin ve mikroskopik olarak inceleyin.

Mikrodalga Prosedürü

- Lamaları deparafinize edin ve deiyonize suyla hidratlayın.
- Lamaları plastik bir Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Periyodik Asit Çözeltisine yerleştirin. Mikrodalga fırına yerleştirmeden önce Coplin kavanozunun kapağını gevşek olarak kapatın veya kapakları delinmiş Coplin kavanozları kullanın. **10 saniye** boyunca **800 watt** seviyesinde mikrodalga fırında tutun. ***Periyodik Asit Çözeltisi, mikrodalga yerine **5 dakika** süreyle oda sıcaklığında kullanılırsa yeniden kullanılabilir. ***Bazal membranlar için Periyodik Asit Çözeltisi inkübasyon süresi **oda sıcaklığında 11 dakikadır**.
- Lamaları Periyodik Asit Çözeltisinden çıkarın ve 6 kez değiştirilen deiyonize suda durulayın.
- Lamaları, plastik Coplin kavanozunda bulunan **40 mL** Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisine yerleştirin.
- Mantar Organizmaları için 35 saniye** süreyle **600 watt** seviyesinde mikrodalgada tutun. Çözeltiyi bir beral pipet veya aplikatör çubuk ile nazikçe karıştırın. **2–3 dakika** inkübe edin. En fazla **2 ila 3 dakika** sonra lamaları ılık deiyonize suya koyun ve mikroskopik olarak gelişimi kontrol edin. Organizmalar yeterince gelişmezse lamaları Çalışma Gümüş Metenamin Çözeltisine geri koyun ve **30 saniye ila 1 dakika** süreyle veya istenen ton elde edilene dek bekletin.

Bazal Membran için 35 saniye süreyle **600 watt** seviyesinde mikrodalgada tutun. Çözeltiyi nazikçe çalkalayın. Lamaları **5 dakika** inkübe edin. **10 saniye** boyunca **600 watt** seviyesinde ikinci kez mikrodalgada tutun. **2 dakika** boyunca lamaların gelişmesini bekleyin. Lamaları mikroskopik olarak kontrol edin. Lamalar yeterince gelişmemişse istenen ton elde edilene dek son adımı tekrarlayın.

- 6 kez değiştirilen deiyonize suda lamaları durulayın.
- Lamaları **30 saniye** süreyle **oda sıcaklığında** Altın Klorür Çözeltisinde tonlama işlemine tabi tutun.
- 6 kez değiştirilen deiyonize suda lamaları durulayın.
- Lamaları **2 dakika** boyunca **oda sıcaklığında** Sodyum Tıyosülfat Çözeltisine yerleştirin.
- Akan musluk suyunu iyice yıkayın.
- Kişisel tercihinize göre Hızlı Yeşil FCF, Açık Yeşil SF Sarımsı, Tartrazin Çözeltisi, Harris Hematoksilin Çözeltisi veya Eozin Y Çözeltisi ile zıt boyama uygulayın.
- Alkolde dehidrasyon uygulayın, ksilende temizleyin, yerleştirin ve mikroskopik olarak inceleyin.

Performans Özellikleri

Hedef Yapı	Boyama sonucu
Mantar	Morumsu-kahverengi ile siyah
Fırsatçı Organizmalar	Morumsu-kahverengi ile siyah
Bazal Membran	Siyah
Arka plan	Zıt boyaya bağlıdır

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliller Arası Özgüllük	Tahliller Arası Duyarlılık
HT1001	Periyodik Asit Çözeltilisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1002	Boraks Çözeltilisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1003	Gümüş Metenamin	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1004	Altın Klorür Çözeltilisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
HT1005	Sodyum Tiyosülfat Çözeltilisi	Mantar organizmaları	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

HT100A:



H271: Yangına veya patlamaya yol açabilir; güçlü oksitleyici.

H302: Yutulması halinde zararlıdır.

H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H317: Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.

H334 Solunması halinde alerji veya astım semptomlarına ya da solunum güçlüğüne neden olabilir.

H351: Kansere neden olabilir.

360FD: Üremeye zarar verebilir. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.

H373: Yutulması halinde uzun süreli veya tekrarlı maruziyet sonucu organlarda (Tiroid) hasara neden olabilir.

H412: Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle zararlıdır.

P210: Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcıklardan, açık alevlerden ve diğer tutuşturma kaynaklarından uzak tutun. Sigara içmeyin.

P273: Çevreye salınmasını önleyin.

P280: Korumayı eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P303 + P361 + P353: CİLTLE (veya saçla) TEMASI halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P304 + P340 + P310: SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

P305 + P351 + P338: GÖZLE TEMASI DURUMUNDA: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı
	İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi belirtir		

Referanslar

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981

- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leiden 1992

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
Rev. 7.0	2025

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Taniya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler bölümü eklendi.

Adlandırma kuralı güncellendi. Kullanım Amacı beyanı revize edildi. Belirli organizmalara yapılan referanslar kaldırıldı. CH-REP ve ithalatçı bilgileri eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya veya bağlı kuruluşlarının ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Käyttöohje

Hopeaväripakkaus (modifioitu GMS)

Menetelmänro HT100



Käyttötarkoitus

Hopeaväripakkaus (modifioitu GMS) on tarkoitettu käytettäväksi sienten, tyvikalvon ja joidenkin opportunististen organismien histologiseen osoittamiseen. Hopeaväripakkaus (modifioitu GMS) on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiseen käyttöön. Vain ammattilaisten käyttöön. Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä saaduista tiedoista tunnistetaan sieniä, tyvikalvo ja joitakin opportunistisia organismeja ihmisen kudokset. Yhdessä muiden diagnostisten testien ja tietojen kanssa tarkasteltuna näitä tietoja voidaan käyttää apuna sieni-infektioiden diagnosoinnissa.

Hopea-meteeniamiini-boraattimenetelmät ovat hyvin dokumentoituja.^{1,2} Yleisesti ottaen nämä vaativat työläistä liuosvalmistelua ennen testin suorittamista. Liuoksen stabiilius on rajallinen, ja tulokset vaihtelevat merkittävästi johtuen metallikyllästyksen ja valokuvakehityksen arvaamattomasta luonteesta.

Hopeaväripakkaus (modifioitu GMS) sisältää stabiilin hopean meteeniamiiniisuolan käyttöliuoksen yhdessä puskurin, sävyttävän reagenssin ja kehityksineen kanssa. Tämän avulla laboratorio saa ainutlaatuisen yhdistelmän sienten, tyvikalvon ja opportunististen organismien visualisoimiseen.³⁻⁵ Ohjeet sisältävät käyttösovelluksen nopeaan värjäykseen mikroal touunien käyttäen.³⁻⁶

Lyhyesti sanottuna mikrobien soluseinän ja tyvikalvon polysakkaridit hapetetaan aldehydeiksi perjodihappokäsittelyllä. Aldehydyryhmä hapettaa hopealoinin emäksisessä pH:ssa hopeametaliksi. Huuhtelu kultaosulloilla muodostaa stabiilin kultakompleksin, ja ylimääräinen hopea poistetaan tiosulfaattipesulla.

Reagenssit

Perjodihappoliuos (luettelonro HT1001-100ML)
Perjodihappo, 1 g/dl, deionisoidussa vedessä

Booraksiliuos (luettelonro HT1002-100ML)
Booraksi, 5 g/dl, deionisoidussa vedessä. Vaara. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

Hopeameteeniamiini (luettelonro HT1003-1VL, HT1003-6VL)
Hopeameteeniamiini, 110 mg/pullo. Vaara. Haitallista nieltynä. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. Pitäällään aiheuttavan syöpää.

Kultakloridiliuos (luettelonro HT1004-100ML)
Kultakloridi, 200 mg/dl, deionisoidussa vedessä.

Natriumtiosulfaattiliuos (luettelonro HT1005-100ML)
Natriumtiosulfaatti, 2 g/dl, deionisoidussa vedessä.

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Muovipinsetit tai parafiinipinnoitetut metallipinsetit.
- Jokaisella ajolla tulee käyttää positiivisia kontrolliohjeilaseja, kuten Fungi TISSUE-TROL™ (luettelonro TTR004).

Vastavärjäykset (valinnaista)

(valinta riippuu näytteestä ja yksilöllisistä mielityksistä)

- Tartratsiiniiliuos, luettelonro HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Harrisin hematoksyliiniiliuos, luettelonro HHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2.5L, HHS128-4L]
- Eosiini Y -liuos, alkoholipitoinen, luettelonro HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2.5L, HT1101128-4L]
- Eosiini Y -liuos, vesipitoinen, luettelonro HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2.5L, HT1102128-4L]
- Eosiini Y -liuos, alkoholipitoinen, sisältää floksiinia, luettelonro HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2.5L, HT1103128-4L]
- Fast Green FCF -väriaine
- Light Green SF Yellowish -väriaine

Vain vakiomenetelmälle:

- Vesihäde, 62 °C

Vain mikroaaltomenetelmälle:

- Muoviset Coplin-astiat ja kannet
- Mikroaaltouuni

Säilytys ja stabiilius

Säilytä perjodihappoliuos, hopeameteeniamiinin käyttöliuos, kultakloridiliuos ja natriumtiosulfaattiliuos jääkaapissa (2–8 °C).

Säilytä booraksiliuos huoneenlämmössä (18–26 °C). HUOMAUTUS: Booraksi voi muodostaa saostuman jääkaappisäilytyksen aikana. Anna tasaantua huoneenlämpöön ja liuota uudelleen ennen käyttöä.

Viimeinen käyttöpäivä on merkitty reagenssin etiketteihin.

Valmistelu

Valmista hopeameteeniamiinin käyttöliuos yhdistämällä 8 ml booraksiliuosta, 100 ml deionisoitua vettä ja yhden hopeameteeniamiinipullon sisältö. Sekoita, kunnes aineet liukenevat. Käytä kertalaaleen, hävitä sen jälkeen.

HUOMAUTUS: Älä anna hopeameteeniamiinin käyttöliuoksen päästä kosketukseen metallien kanssa.

HUOMAUTUS: Hopeameteeniamiini voidaan liuottaa 100 ml:aan deionisoitua vettä ja säilyttää tiukasti korkilla suljettuna, jotta testejä saadaan kaksi pulloa kohden. Tämä liuos on stabiili jääkaapissa säilytettynä (2–8 °C) yhden (1) kuukauden ajan. Kun liuosta ollaan valmis käyttämään, ota 50 ml hopeameteeniamiiniliuosta ja lisää 4 ml booraksiliuosta. Palauta käyttämätön hopeameteeniamiiniliuos jääkaappiin.

Esilämmitä kaikki reagenssit huoneenlämpöiseksi ennen käyttöä.

Varotoimet

Tämän pakkauksen *in vitro* -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi *in vitro* -diagnostiikassa kliinisessä laboratorioympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. *In vitro* -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisnäytteitä ja käyttämään mikroskooppia ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskooppilla.

Normaaleja laboratorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varotoimia tulee noudattaa. Hävitä jätteet kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

Fungi TISSUE-TROL™ -kontrolliohjeilasi sisältävät parafiiniin valettua eläinkudosta, joka sisältää sieniä, ja kontrolliohjeilaseja on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Menettely

Näytteenotto

Millään tunnetulla testimenetelmällä ei voida täysin taata, että veri- tai kudokset eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudokset on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Sieniorganismit ja opportunistiset organismit kuten *P. carinii*

Kiinnitä 10-prosenttisella neutraalipuskuroidulla formaliinilla tai Bouinin liuoksella, vala parafiiniin ja leikkaa viiden mikrometrin leikkeitä.¹

Tyvikalvo

Kiinnitä 10-prosenttisella neutraalipuskuroidulla formaliinilla, Bouinin liuoksella tai Zenkerin liuoksella ja leikkaa 1–4 mikrometrin parafiinileikkeitä.¹

Huomautukset

Värjäysmaljat on pestävä laboratorion lasitavaran nestemäisellä Dishbrite-puhdistusainekonsentraatilla, luettelonro S4107, ja sen jälkeen valkaisuaineliuoksella, huuhteltava vesijohtovedellä huolellisesti ja sen jälkeen deionisoidulla vedellä, vähintään kuudella vaihdolla.

Jos käytetään mikroaaltouunia, katso sen ohjeet käyttöoppaasta.

Vakiomenetelmä

- Valmista hopeameteeniamiinin käyttöliuos kuten kuvataan osiossa Valmistelu, ja aseta 62 °C:n vesihäuteeseen.
- Poista parafiini kudokset leikkeistä ja rehydroidi deionisoituun veteen.
- Aseta rehydroidit leikkeet perjodihappoliuokseen **5 minuutiksi** sieniä ja opportunistisia organismeja varten tai **11 minuutiksi** tyvikalvoa varten
- Poista objektilasit ja huuhtelee deionisoidussa vedessä, kuusi kertaa vaihtuen.
- Sienten ja opportunististen organismien osoittamista varten:** aseta objektilasit esilämmitettyyn hopeameteeniamiinin käyttöliuokseen. Tarkastele mikroskooppilla 20 minuutin kuluttua. Sienten ja opportunististen organismien pitäisi olla tummanruskeita vaaleankeltaista taustaa vasten.
- Tyvikalvon osoittamista varten:** aseta objektilasit esilämmitettyyn hopeameteeniamiinin käyttöliuokseen. Tarkastele mikroskooppilla 30 minuutin kuluttua. Tyvikalvon pitäisi olla musta, tummankeltaista-ruskeaa taustaa vasten.
- HUOMAUTUS:** Kun leikkeitä inkuboidaan 62 °C:ssa, aseta deionisoitua vettä sisältävä Coplin-astia 62 °C:n vesihäuteeseen. Käytä tätä vettä huuhteluun ennen vaiheen 5 arviointia. Tarkastele mikroskooppilla, ovatko leikkeet värjäytyneet riittävästi ilmoitettujen aikojen kuluttua. Palauta objektilasit lämpimään hopeameteeniamiinin käyttöliuokseen, kunnes haluttu voimakkuus saavutetaan.
- Poista objektilasit hopeameteeniamiinin käyttöliuoksesta sen jälkeen, kun riittävä rakenteiden värjäytyminen on saavutettu, ja huuhtelee kuusi kertaa huoneenlämpöisellä deionisoidulla vedellä.
- Sävytä leikkeitä kultakloridiliuoksella **30 sekuntia**.
- Huuhtelee huoneenlämpöisellä deionisoidulla vedellä kuusi kertaa.
- Aseta leikkeet natriumtiosulfaattiliuokseen **2 minuutiksi**.
- Pese juoksevalle vesijohtovedellä huolellisesti.
- Vastavärjää oman mielityksen mukaan tartratsiiniilioksella, Fast Green FCF -liuoksella, Light Green SF Yellowish -liuoksella, Harrisin hematoksyliiniilioksella tai eosini Y -liuoksella.
- Dehydraus alkoholissa, kirkasta ksyleenissä, peitä objektilasi ja tarkastele mikroskooppilla.

Mikroaaltomenetelmä

- Poista parafiini objektilaseista ja hydratoi deionisoituun veteen.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** perjodihappoliuosta, joka on muovisessa Coplin-astiasa. Peitä Coplin-astia ennen mikroaaltouuniin asettamista kevyesti kannella tai käytä Coplin-astioita, joiden kansiin on porattu reikiä. Käytä mikroaaltouunissa **800 watin teholla 10 sekunnin** ajan. ***Perjodihappoliuosta voidaan käyttää uudelleen, jos sitä on käytetty huoneenlämpötilassa **5 minuutin** ajan mikroaaltokäsittelyn sijaan. ***Tyvikalvoille inkubaatioaika perjodihappoliuoksessa on **11 minuuttia huoneenlämmössä**.
- Poista objektilasit perjodihappoliuoksesta ja pese deionisoidussa vedessä kuusi kertaa vaihtuen.
- Aseta objektilasit **40 ml:aan** hopeameteeniamiinin käyttöliuosta joka on muovisessa Coplin-astiasa.
- Sieniorganismeille:** Käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **35 sekunnin** ajan. Sekoita seosta varovasti muovisella Pasteur-pipetillä tai levitystikulla. Anna inkuboitua **2–3 minuuttia**. Aseta objektilasit enintään **2–3** minuutin kuluttua lämpimään deionisoituun veteen ja tarkastele värin kehittymistä mikroskooppilla. Jos organismien värjäys ei ole riittävän kehittynyt, palauta objektilasit hopeameteeniamiinin käyttöliuokseen ja anna seistä **30 sekunnin–1 minuutin** ajan tai kunnes haluttu sävy on saavutettu.

Tyvikalvolle: käytä mikroaaltouunissa **600 watin** teholla **35 sekunnin** ajan. Ravistelee liuosta varovasti. Anna objektilasien inkuboitua **5 minuuttia**. Käytä mikroaaltouunissa toisen kerran **600 watin** teholla **10 sekunnin** ajan. Anna objektilasien inkuboitua **2 minuuttia**. Tarkastele objektilaseja mikroskooppilla. Jos objektilasit eivät ole kehittyneet riittävästi, toista viimeinen vaihe, kunnes haluttu sävy on saavutettu.

- Huuhtelee objektilaseja deionisoidulla vedellä kuusi kertaa vaihtuen.
- Sävytä kultakloridiliuoksessa **30 sekuntia huoneenlämpötilassa**.
- Huuhtelee objektilaseja deionisoidulla vedellä kuusi kertaa vaihtuen.
- Aseta objektilasit natriumtiosulfaattiliuokseen **2 minuutiksi huoneenlämpötilassa**.
- Pese juoksevalle vesijohtovedellä huolellisesti.

11. Vastavärrjää oman mieltymyksen mukaan Ffast Green FCF -liuoksella, Light Green SF Yellowish -liuoksella, tartratsiiniliuoksella, Harrisin hematoksyliiniliuoksella tai eosini Y -liuoksella.
12. Dehydraus alkoholissa, kirkasta ksyleenissä, peitä objektilasi ja tarkastele mikroskoopilla.

Suorituskykyominaisuudet

Kohderakenne	Värrjästulos
Sienet	Purppuranpunainen-ruskea tai musta
Opportunistiset organismit	Purppuranpunainen-ruskea tai musta
Tyvikalvo	Musta
Tausta	Riippuu vastavärristä

Jos havaitut tulokset eroavat odotetuista tuloksista, ota yhteyttä Sigma-Aldrichin tekniseen palveluun.

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

Kaikilla kohderakenteilla suoritetuista testeistä saadut analyttiset suorituskykytulokset vahvistavat 100-prosenttisen herkkyyden, spesifisyyden ja toistettavuuden.

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrityksen sisäisen spesifisyys	Määrityksen sisäinen herkkyys	Määritysten välinen spesifisyys	Määritysten välinen herkkyys
HT1001	Perjodihappoliuos	Sieniorganismit	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1002	Booraksiliuos	Sieniorganismit	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1003	Hopeameteenia-miini	Sieniorganismit	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1004	Kultakloridiliuos	Sieniorganismit	3/3	3/3	3/3	3/3
HT1005	Natriumtiosulfaattiliuos	Sieniorganismit	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

Katso päivitetyt riski-, vaara- ja turvallisuustiedot käyttöturvallisuustiedotteesta ja tuotemerkinnöistä.

HT100A:



- H271: Aiheuttaa tulipalo- tai räjähdysvaaran; voimakkaasti hapettava.
- H302: Haitallista nieltynä.
- H314: Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.
- H317: Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion.
- H334 Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia.
- H351: Epäillään aiheuttavan syöpää.
- 360FD: Saattaa heikentää hedelmällisyyttä. Saattaa vaurioittaa sikiötä.
- H373: Saattaa vahingoittaa elimiä (kilpirauhanen) pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa nieltynä.
- H412: Haitallista vesielioille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.
- P210: Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.
- P273: Vältettävä päästämistä ympäristöön.
- P280: Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
- P303 + P361 + P353: JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuho iho vedellä.
- P304 + P340 + P310: JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.
- P305 + P351 + P338: JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuho huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaatimustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnoosiikkaan tarkoitettu lääkinällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Osoittaa valtuutetun edustajan Sveitsissä		

Lähteet

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](#). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Versiohistoria

Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2022
Versio 6.0	2022
	Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisäty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Lauselman diagnosointiavusta siirretty käyttötarkoituksen alle. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiota poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisäty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lisäty kohta Varoitukset ja vaarat.
Versio 7.0	2025
	Nimeämiskäytäntöä päivitetty. Käyttötarkoitukselausunto tarkistettu. Poistettu viittaukset tiettyihin organismeihin. Lisäty CH-REP-tiedot ja maahantuojan tiedot.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

M-alkukirjain, TISSUE-TROL ja Sigma-Aldrich ovat Merck KGaA -yhtiön, Darmstadt, Saksa, tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä. Kaikki muut tavaramerkit ovat haltijoidensa omaisuutta. Yksityiskohtaiset tavaramerkkitiedot ovat saatavilla julkisista lähteistä.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Gebruiksaanwijzing

Kit voor zilverkleuring (gemodificeerde GMS)

Procedurenr. HT100



Beoogd gebruik

De kit voor zilverkleuring (gemodificeerde GMS) is bedoeld voor het histologisch aantonen van schimmels, basaalmembraan en enkele opportunistische organismen. De kit voor zilverkleuring (gemodificeerde GMS) is bedoeld voor 'in vitro' diagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. De gegevens die verkregen zijn met deze handmatige, kwalitatieve procedure identificeren schimmels, basaalmembraan en enkele opportunistische organismen in menselijke weefselsmonsters. Deze gegevens kunnen worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose van schimmelinfecties wanneer ze worden beoordeeld in combinatie met andere diagnostische tests.

Procedures voor zilvermethenamine-boraat zijn goed gedocumenteerd.^{1,2} Over het algemeen moeten deze oplossingen grondig worden voorbereid voordat de prestaties worden getest. De stabiliteit van de oplossing is beperkt en de resultaten variëren opmerkelijk door de grillige aard van metaalimpregnatie en fotografische ontwikkeling.

De kit voor zilverkleuring (gemodificeerde GMS) bevat een stabiele werkoplossing van methenaminezilverzout, samen met een buffer, toningreagens en ontwikkelaar. Hiermee beschikt het laboratorium over een uniek pakket voor het visualiseren van schimmels, basaalmembraan en opportunistische organismen.³⁻⁵ Er is een toepassing inbegrepen voor snelle kleuring met behulp van een magnetron.³⁻⁶

In het kort worden microbiële polysacchariden van de celwand en het basaalmembraan geoxideerd tot aldehyden door behandeling met periodiek zuur. De aldehydegroep vermindert bij een alkalische pH zilverionen tot metallisch zilver. Spoelen met goudzouten vormt een stabiel goudcomplex en overtollig zilver wordt verwijderd door een thiosulfaatspoeling.

Reagentia

Periodieke zuuroplossing (cat.nr. HT1001-100ML)

Periodiek zuur, 1 g/dL, in gedeïoniseerd water

Boraxoplossing (cat.nr. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dL, in gedeïoniseerd water. Gevaar. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Zilvermethenamine (cat.nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Zilvermethenamine, 110 mg/flacon. Gevaar. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan bij inademing allergische of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Wordt ervan verdacht kanker te veroorzaken.

Goudchloride-oplossing (cat.nr. HT1004-100ML)

Goudchloride, 200 mg/dL, in gedeïoniseerd water.

Natriumthiosulfaatoplossing (cat.nr. HT1005-100ML)

Natriumthiosulfaat, 2 g/dL, in gedeïoniseerd water.

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Plastic pincet of metalen pincet met een coating van paraffine.
- Objectglaasjes voor positieve controle, zoals Fungi TISSUE-TROL™ (cat.nr. TTR004) moeten in elke run worden gebruikt.

Tegenkleuringen (optioneel)

(keuze is afhankelijk van het monster en de individuele voorkeuren)

- Tartrazine-oplossing, (cat.nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML])
- Harris-hematoxylineoplossing, cat.nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eosine Y-oplossing, alcoholisch, cat.nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eosine Y-oplossing, waterige oplossing, cat.nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eosine Y-oplossing, alcoholisch, met floxine, cat.nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Alleen voor standaardprocedure:

- Waterbad, 62 °C

Alleen voor magnetronprocedures:

- Plastic Coplin-potten met deksels
- Magnetron

Opslag en stabiliteit

Bewaar de periodieke zuuroplossing, de werkoplossing van zilvermethenamine, de goudchloride-oplossing en de natriumthiosulfaatoplossing gekoeld (2-8 °C).

Bewaar boraxoplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C). **OPMERKING:** Borax kan neerslag vormen tijdens het koelen. Breng op kamertemperatuur en los opnieuw op vóór gebruik.

Op de etiketten van de reagentia staat de vervaldatum.

Voorbereiding

Bereid de werkoplossing van zilvermethenamine voor door 8 ml boraxoplossing, 100 ml gedeïoniseerd water en de inhoud van één flacon zilvermethenamine te combineren. Meng tot het is opgelost. Eenmaal gebruiken, vervolgens weggooien.

OPMERKING: Laat de werkoplossing van zilvermethenamine niet in contact komen met metalen.

OPMERKING: Om het aantal tests per flacon te verhogen tot twee, kan zilvermethenamine worden opgelost in 100 ml gedeïoniseerd water en worden bewaard met een dichte dop. Deze oplossing is 1 maand stabiel in de koelkast (2-8 °C). Wanneer de oplossing klaar is voor gebruik, neemt u 50 ml van één oplossing van zilvermethenamine en voegt u 4 ml boraxoplossing toe. Zet het ongebruikte deel van de zilvermethenamine-oplossing terug in de koelkast.

Vóór gebruik alle reagentia opwarmen tot kamertemperatuur.

Voorzorgsmaatregelen

De IVD's in deze kit zijn bedoeld voor *in vitro* diagnostisch gebruik in een klinische laboratoriumomgeving. Deze IVD's zijn uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik door gekwalificeerd personeel. IVD's van Sigma-Aldrich mogen bediend worden door laboratoriumpersoneel dat opgeleid is om om te gaan met humane monsters die infectieus kunnen zijn, microscopen en andere laboratoriumapparatuur te gebruiken en met voldoende kleurwaarneming en gezichtsscherpte om kleuren en andere objecten onder een microscoop te onderscheiden.

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Fungi TISSUE-TROL™-controleobjectglaasjes zijn in paraffine ingebed menselijk weefsel dat ijzer bevat en moeten als potentieel infectieus worden beschouwd.

Procedure

Monsterafname

Geen enkele bekende testmethode kan volledige zekerheid bieden dat bloedmonsters of weefsel geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloedderivaten of weefselsmonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Schimmel en opportunistische organismen zoals *P. carinii*

Fixeer in 10% neutraal gebufferde formaline of Bouin's oplossing, ingebed in paraffine en snijd secties van 5 micron.¹

Basaalmembraan

Fixeer in 10% neutraal gebufferde formaline, Bouin's of Zenker's oplossing en snijd paraffinesecties van 1-4 micron.¹

Opmerkingen

Kleurbakjes moeten worden gewassen in vloeibaar reinigingsconcentraat voor laboratoriumglaswerk van Dishbrite, cat.nr. S4107, daarna in bleekoplossing, goed gespoeld in kraanwater en vervolgens in ten minste 6 verversingen gedeïoniseerd water.

Als u een magnetron gebruikt, raadpleeg dan de gebruikershandleiding voor instructies.

Standaardprocedure

1. Bereid de werkoplossing van zilvermethenamine zoals beschreven in de sectie 'Voorbereiding' en plaats deze in een waterbad van 62 °C.
2. Deparaffineer weefselsecties en rehydrateer ze met gedeïoniseerd water.
3. Plaats de gerehydrateerde secties **5 minuten** in de periodieke zuuroplossing voor schimmels en opportunistische organismen of **11 minuten** voor basaalmembraan.
4. Verwijder de objectglaasjes en spoel ze met 6 verversingen gedeïoniseerd water.
5. Plaats **voor het aantonen van schimmels en opportunistische organismen** de objectglaasjes in een voorverwarme werkoplossing van zilvermethenamine. Onderzoek de objectglaasjes microscopisch na 20 minuten. Schimmels en opportunistische organismen moeten donkerbruin zijn tegen een lichtgele achtergrond. **Plaats voor het aantonen van basaalmembraan** de objectglaasjes in de voorverwarme werkoplossing van zilvermethenamine. Onderzoek de objectglaasjes microscopisch na 30 minuten. Het basaalmembraan moet zwart zijn tegen een donkergeel-bruine achtergrond. **OPMERKING:** Plaats tijdens het incuberen van secties bij 62 °C een Coplin-pot met gedeïoniseerd water in een waterbad van 62 °C. Gebruik dit water om te spoelen voorafgaand aan de evaluatie in stap 5. Controleer de secties microscopisch op voldoende kleuring op de aangegeven intervallen. Breng de objectglaasjes terug naar de warme werkoplossing van zilvermethenamine totdat de gewenste intensiteit is bereikt.
6. Verwijder de objectglaasjes uit de werkoplossing van zilvermethenamine nadat voldoende structurele kleuring is bereikt en spoel ze 6 keer in gedeïoniseerd water op kamertemperatuur.
7. Kleur de secties **30 seconden** in goudchlorideoplossing.
8. Spoel ze 6 keer in gedeïoniseerd water op kamertemperatuur.
9. Plaats de secties **2 minuten** in de natriumthiosulfaatoplossing.
10. Spoel ze goed af onder stromend kraanwater.
11. Tegenkleuring naar persoonlijke voorkeur met tartrazine-oplossing, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harris Hematoxylineoplossing of Eosin Y-oplossing.
12. Dehydrateer in alcohol, maak helder in xyleen, plaats op een objectglaasje en onderzoek microscopisch.

Magnetronprocedure

1. Deparaffineer glaasjes en hydrateer met gede-ioniseerd water.
2. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** periodieke zuuroplossing in een kunststof Coplin-pot. Bedek Coplin-potten losjes voordat u ze in de magnetron plaatst, of gebruik Coplin-potten met gaatjes in de deksels. Verwarm **10 seconden** in de magnetron op **800 watt**. ***Periodieke zuuroplossing kan opnieuw worden gebruikt als deze **5 minuten** bij kamertemperatuur wordt gebruikt in plaats van in de magnetron. ***Voor basaalmembranen is de incubatietijd van de periodieke zuuroplossing **11 minuten bij kamertemperatuur**.
3. Verwijder de objectglaasjes uit de periodieke zuuroplossing en spoel ze met 6 verversingen gedeïoniseerd water.
4. Plaats de objectglaasjes in **40 ml** werkoplossing van zilvermethenamine in een kunststof Coplin-pot.
5. **Verwarm de objectglaasjes voor schimmelorganismen 35 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Meng de oplossing voorzichtig met een beralpipet of applicatorstaafje. Laat **2-3 minuten** incuberen. Plaats de objectglaasjes na maximaal **2 tot 3 minuten** in warm gedeïoniseerd water en controleer de ontwikkeling microscopisch. Als de organismen niet voldoende zijn ontwikkeld, plaats de objectglaasjes dan terug in de werkoplossing van zilvermethenamine en laat ze **30 seconden** tot **1 minuut** staan, of tot de gewenste kleur is bereikt.

Plaats de objectglaasjes voor basaalmembraan 35 seconden in de magnetron op

600 watt. Schud de oplossing voorzichtig. Laat de objectglaasjes **5 minuten** incuberen.

Plaats ze een tweede keer **10 seconden** in de magnetron op **600 watt**. Laat de

objectglaasjes **2 minuten** ontwikkelen. Controleer de objectglaasjes microscopisch.

Als de objectglaasjes niet voldoende zijn ontwikkeld, herhaal dan de laatste stap totdat de gewenste kleur is bereikt.

6. Spoel de objectglaasjes met zes verversingen gedeïoniseerd water.
7. Kleur de objectglaasjes **30 seconden** bij **kamertemperatuur** in de goudchlorideoplossing.
8. Spoel de objectglaasjes met zes verversingen gedeïoniseerd water.

9. Plaats de objectglaasjes **2 minuten** bij **kamertemperatuur** in de natriumthiosulfaatoplossing
10. Spoel ze goed af onder stromend kraanwater.
11. Tegenkleuring naar persoonlijke voorkeur met Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartrazine-oplossing, of Harris Hematoxylineoplossing, of Eosin Y-oplossing.
12. Dehydrateer in alcohol, maak helder in xyleen, plaats op een objectglaasje en onderzoek microscopisch.

Prestatiekenmerken

Doelstructuur	Kleuringsresultaat
Schimmels	Purperbruin tot zwart
Opportunistische organismen	Purperbruin tot zwart
Basaalmembraan	Zwart
Achtergrond	Afhankelijk van tegenkleuring

Als de waargenomen resultaten afwijken van de verwachte resultaten, neem dan contact op met de technische dienst van Sigma-Aldrich voor assistentie.

Analytische prestatiekenmerken

De resultaten van de analytische prestaties voor de gegeven tests, uitgevoerd op alle doelstructuren, bevestigen 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat.nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
HT1001	Periodieke zuuroplossing	Schimmelor-ganismen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT1002	Boraxoplossing	Schimmelor-ganismen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT1003	Zilvermethenamine	Schimmelor-ganismen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT1004	Goudchloride-oplossing	Schimmelor-ganismen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
HT1005	Natriumthiosulfaatoplossing	Schimmelor-ganismen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

HT100A:



- H271: Kan brand of explosie veroorzaken; sterk oxidatiemiddel.
- H302: Schadelijk bij inslikken.
- H314: Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel.
- H317: Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
- H334 Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken.
- H351: Wordt ervan verdacht kanker te veroorzaken.
- 360FD: Kan de vruchtbaarheid aantasten. Kan het ongeboren kind schaden.
- H373: Kan schade aan organen (schildklier) veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling bij inslikken.
- H412: Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
- P210: Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Niet roken. Verboden te roken.
- P273: Voorkom lozing in het milieu.
- P280: Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming dragen.
- P303 + P361 + P353: BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.
- P304 + P340 + P310: BIJ INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P305 + P351 + P338: BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Verwijder contactlenzen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Ga verder met spoelen.

Als zich tijdens het gebruik van dit apparaat of als gevolg van het gebruik ervan een ernstig incident heeft voorgedaan, meld dit dan aan de fabrikant en/of zijn gemachtigde vertegenwoordiger en aan uw nationale autoriteit.

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

	Fabrikant		Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Batchcode
	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie		Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum		Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Fabricagedatum		Importeur
	Geeft de geautoriseerde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2e editie, CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980.
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnologie: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990.
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leiden 1992

Contactgegevens

Bezoek onze website op SigmaAldrich.com om een bestelling te plaatsen. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website SigmaAldrich.com/techservice.

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2022	
Rev. 6.0	2022	Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Hulp bij diagnosticering verplaatst naar beoogd gebruik. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Sectie 'Waarschuwingen en gevaren' is toegevoegd.
Rev. 7.0	2025	Naamgevingsconventie bijgewerkt. Herziene verklaring voor beoogd gebruik. Verwijzingen naar specifieke organismen verwijderd. CH-REP en importeursinformatie toegevoegd.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

De Initial M, TISSUE-TROL en Sigma-Aldrich zijn handelsmerken van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland of zijn gelieerde ondernemingen. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars. Gedetailleerde informatie over handelsmerken is beschikbaar via openbaar toegankelijke bronnen.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Navodila za uporabo

Komplet za obarvanje s srebrom (modificirani GMS)

Postopek št. HT100

IVD

CE

Millipore
Sigma

Predvidena uporaba

Komplet za obarvanje s srebrom (modificirani GMS) je namenjen za uporabo pri histološkem prikazu gliv, bazalne membrane in nekaterih oportunističnih organizmov. Komplet za obarvanje s srebrom (modificirani GMS) je namenjen "diagnostični uporabi *in vitro*". Samo za strokovno uporabo. Ta ročni, kvalitativni postopek omogoča prepoznavanje gliv, bazalne membrane in nekaterih oportunističnih organizmov v vzorcih človeškega tkiva. Rezultati se lahko v povezavi z drugimi diagnostičnimi testi in informacijami uporabijo kot pomoč pri diagnosticiranju glivičnih okužb.

Postopki s srebrovim metenaminskim boratom so dobro dokumentirani.^{1,2} V splošnem je pri njih pred delovanjem testa potrebna natančna priprava raztopine. Stabilnost raztopine je omejena, zaradi muhaste narave impregnacije kovine in razvijanja fotografij pa se rezultati izjemno razlikujejo.

Komplet za obarvanje s srebrom (modificirani GMS) vsebuje stabilno delovno srebrovo metenaminsko sol ter pufer, reagent za toniranje in razvijalec. S tem je laboratoriju zagotovljen edinstven paket za vizualizacijo gliv, bazalne membrane in oportunističnih organizmov.³⁻⁵ Vključen je način uporabe za hitro barvanje v mikrovalovni pečici.³⁻⁶

Povedano na kratko: stena mikrobne celice in polisaharidi bazalne membrane so oksidirani v aldehide z obdelavo s perodno kislino. Aldehidna skupina pri alkalnem pH reducira srebrove ione v kovinsko srebro. S spiranjem s solmi zlata se ustvari stabilnejši kompleks zlata, odvečno srebro pa je odstranjeno s pranjem s tiosulfatom.

Reagenti

Raztopina perjodne kisline (kat. št. HT1001-100ML)

Perjodna kislina, 1 g/dL, v deionizirani vodi

Raztopina boraksa (kat. št. HT1002-100ML)

Boraks, 5 g/dL, v deionizirani vodi. Nevarno. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.

Srebrov metenamin (kat. št. HT1003-1VL, HT1003-6VL)

Srebrov metenamin, 110 mg/vialo. Nevarno. Zdravju škodljivo pri zaužitju. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju. Sum povzročitve raka.

Raztopina zlatega klorida (kat. št. HT1004-100ML)

Zlato klorid, 200 mg/dL, v deionizirani vodi

Raztopina natrijevega tiosulfata (kat. št. HT1005-100ML)

Natrijev tiosulfat, 2 g/dL, v deionizirani vodi

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Plastične klešče ali s parafinom prevlečene klešče.
- V vsako izvedbo je treba vključiti pozitivne kontrolne preparate, kot so Fungi TISSUE-TROL™ (kat. št. TTR004)

Nasprotno obarvanje (dodatna možnost)

(izbira je odvisna od vzorca in osebnih preferenc)

- Raztopina tartrazina, kat. št. HT302 (HT3024-120ML, HT3028-250ML)
- Raztopina modificiranega Harrisovega hematoksilina, kat. št. HHS (HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2.5L, HHS128-4L)
- Raztopina eozina Y, alkoholna, kat. št. HT1101 (HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2.5L, HT1101128-4L)
- Raztopina eozina Y, vodna, kat. št. HT1102 (HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2.5L, HT1102128-4L)
- Raztopina eozina Y, alkoholna, s floksinom (kat. št. HT1103 (HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2.5L, HT1103128-4L)
- Zelenilo FCF
- Svetlo zeleno SF rumenkasto barvilo

Samo za standardni postopek:

- vodna kopel, 62 °C

Samo za postopek z mikrovalovno pečico:

- plastični kozarci Coplin s pokrovi
- mikrovalovna pečica

Shranjevanje in stabilnost

Raztopino perjodne kisline, delovni srebrov metenamin, raztopino zlatega klorida in raztopino natrijevega tiosulfata hranite v hladilniku (2–8 °C).

Raztopino boraksa hranite pri sobni temperaturi (18–26 °C). OPOMBA: v boraksu med shranjevanjem v hladilniku lahko nastane oborina. Pred uporabo segrejte na sobno temperaturo in znova raztopite.

Na etiketah reagentov je naveden datum izteka roka uporabnosti.

Priprava

Pripravite delovno raztopino srebrovega metenamina, tako da kombinirate 8 mL raztopine boraksa, 100 mL deionizirane vode in vsebino ene vial srebrovega metenamina. Mešajte, dokler ni raztopljeno. Uporabite enkrat in nato zavrzite.

OPOMBA: ne smete dovoliti, da bi delovna raztopina srebrovega metenamina prišla v stik s kovinami.

OPOMBA: da povečate število testov na vialo na dva, lahko srebrov metenamin raztopite v 100 mL deionizirane vode in ga shranite trdno zaprtega. Ta raztopina je stabilna, če jo 1 mesec hranite v hladilniku (2–8 °C). Ko je pripravljena za uporabo, vzemite 50 mL ene raztopine srebrovega metenamina in dodajte 4 mL raztopine boraksa. Vrnite neuporabljen del raztopine srebrovega metenamina v hladilnik.

Pred uporabo vse reagente segrejte na sobno temperaturo (18–26 °C).

Previdnostni ukrepi

Izdelki IVD, ki so vključeni v ta komplet, so namenjeni za diagnostično uporabo *in vitro* v kliničnem laboratoriju. Ti izdelki IVD so namenjeni le strokovni uporabi s strani usposobljenega osebja. Z napravami Sigma-Aldrich IVD lahko upravlja laboratorijsko osebje, ki je usposobljeno za ravnanje s človeškimi vzorci, ki so lahko kužni, za uporabo mikroskopov in druge laboratorijske opreme ter imajo sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranite v skladu z vsemi lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi.

Kontrolni preparati Fungi TISSUE-TROL™ so v parafin vklopljeno živalsko tkivo, ki vsebuje glive, in jih je treba obravnavati kot potencialno infektivne.

Postopek

Zbiranje vzorcev

Nobena znana testna metoda ne more dati popolnega zagotovila, da vzorci krvi ali tkiva ne bodo prenesli okužbe. Zato je treba vse krvne derivate ali tkivne vzorce obravnavati kot potencialno kužne.

Glive in oportunistični organizmi, kot je *P. carinii*

Fiksirajte v 10-odstotnem nevtralnem puferiranem formalinu ali Bouinovi raztopini, vklopite v parafin in razrežite na 5-mikronske rezine.¹

Bazalna membrana

Fiksirajte v 10-odstotnem nevtralnem puferiranem formalinu ali Bouinovi ali Zenkerjevi raztopini in razrežite parafinske rezine na debelino 1–4 mikrone.¹

Opombe

Posodice za barvanje je treba oprati v tekočem koncentratu za čiščenje laboratorijske steklovine Dishbrite, kat. št. S4107, in nato v raztopini belila ter jih dobro sprati pod tekočo vodovodno vodo, nato pa še z vsaj 6 menjavami deionizirane vode.

Če uporabljate mikrovalovno pečico, glejte Priročnik za uporabo.

Standardni postopek

- Pripravite delovno raztopino srebrovega metenamina, kot je opisano v razdelku Priprava, in jo postavite v vodno kopel s temperaturo 62 °C.
- Deparafinizirajte tkivne rezine in jih rehidrirajte do deionizirane vode.
- Rehidrirane rezine postavite v raztopino perjodne kisline, kar naj pri glivah in oportunističnih organizmih traja **5 minut**, pri bazalni membrani pa **11 minut**.
- Odstranite preparate in sperite s 6 menjavami deionizirane vode.
- Za prikaz gliv in oportunističnih organizmov** postavite preparate v prej segreto delovno raztopino srebrovega metenamina. Po 20 minutah mikroskopsko pregledajte. Glive in oportunistični organizmi morajo biti temno rjave barve na blede rumenem ozadju. **Za prikaz bazalne membrane** postavite preparate v prej segreto delovno raztopino srebrovega metenamina. Po 30 minutah mikroskopsko pregledajte. Bazalna membrana mora biti črne barve na rumenorjavi ozadju. **OPOMBA:** Med inkubiranjem rezin pri temperaturi 62 °C postavite kozarec Coplin, ki vsebuje deionizirano vodo, v vodno kopel s temperaturo 62 °C. To vodo uporabite za spiranje pred ocenjevanjem v koraku 5. Pod mikroskopom pregledajte, če so rezine ustrezno obarvane na navedenih intervalih. Preparat vrnite v toplo delovno raztopino srebrovega metenamina in jih pustite v njej, dokler ni dosežena zelena intenzivnost.
- Ko je doseženo ustrezno strukturno obarvanje, odstranite preparate iz delovne raztopine srebrovega metenamina in jih 6-krat sperite v deionizirani vodi sobne temperature.
- Rezine **30 sekund** tonirajte v raztopini zlatega klorida.
- Sperite 6-krat v deionizirani vodi sobne temperature.
- Rezine postavite v raztopino natrijevega tiosulfata za **2 minuti**.
- Temeljito sperite s tekočo vodovodno vodo.
- Glede na osebne preference nasprotno obarvajte z raztopino tartrazina, zelenilom FCF, svetlozelenim SF rumenkastim barvilom, raztopino Harrisovega hematoksilina ali raztopino eozina Y.
- Dehidrirajte v alkoholu, očistite v ksilenu in pregledajte z mikroskopom.

Postopek z mikrovalovno pečico

- Preparat deparafinizirajte in hidrirajte do deionizirane vode.
- Preparate potopite v **40 mL** raztopine perjodne kisline, ki je v plastičnem kozarcu Coplin. Pred prenosom v mikrovalovno pečico rahlo pokrijte kozarec Coplin s pokrovom ali uporabite kozarec Coplin, ki imajo v pokrove izvrtno luknjo. V mikrovalovni pečici **10 sekund** segrevajte z **800 W**. ***Raztopino perjodne kisline je mogoče znova uporabiti, če je namesto segrevanja v mikrovalovni pečici uporabljena pri sobni temperaturi **5 minut**. ***Za bazalne membrane je inkubacijski čas v raztopini perjodne kisline **11 minut pri sobni temperaturi**.
- Odstranite preparate iz raztopine perjodne kisline in sperite v 6-krat zamenjani deionizirani vodi.
- Prestavite preparate v **40 mL** delovne raztopine srebrovega metenamina, ki je v plastičnem kozarcu Coplin.
- Glivne organizme 35 sekund** segrevajte v mikrovalovni pečici s **600 W**. Previdno mešajte raztopino s plastično pipeto ali aplikatorsko paličico. Pustite inkubirati **2–3 minute**. Po ne več kot **2 do 3 minutah** prestavite preparate v toplo deionizirano vodo in pregledajte razvoj z mikroskopom. Če se organizmi še niso dovolj razvili, vrnite preparate v delovno raztopino srebrovega metenamina in jih v njej pustite od **30 sekund do 1 minute** ali dokler ni dosežen zeleni ton.

Bazalno membrano 35 sekund segrevajte z **600 W**. Raztopino previdno premešajte. Pustite, da se preparati inkubirajo **5 minut**. V mikrovalovni pečici **10 sekund** drugič segrevajte s **600 W**. Pustite, da se preparati razvijejo **2 minuti**. Preparat pregledajte z mikroskopom. Če preparati niso dovolj razviti, ponavljajte zadnji korak, dokler ne bo dosežen zeleni ton.

- Preparate temeljito sperite s 6 menjavami deionizirane vode.
- Preparate tonirajte **30 sekund** v raztopini zlatega klorida pri **sobni temperaturi**.
- Preparate temeljito sperite s 6 menjavami deionizirane vode.
- Preparate potopite v raztopino natrijevega tiosulfata za **2 minuti pri sobni temperaturi**.
- Temeljito sperite s tekočo vodovodno vodo.
- Glede na osebne preference nasprotno obarvajte z zelenilom FCF, svetlozelenim SF rumenkastim barvilom, raztopino tartrazina, raztopino Harrisovega hematoksilina ali raztopino eozina Y.
- Dehidrirajte v alkoholu, očistite v ksilenu in pregledajte z mikroskopom.

Lastnosti delovanja

Ciljna struktura	Rezultat barvanja
Glive	Škrlatasto rjava do črna barva
Oportunistični organizmi	Škrlatasto rjava do črna barva
Bazalna membrana	Črna barva
Ozadje	Ovisno od nasprotnega obarvanja

Če opaženi rezultati odstopajo od pričakovanih, se za pomoč obrnite na oddelek za tehnično pomoč podjetja Sigma-Aldrich.

Značilnosti analitične učinkovitosti

Rezultati analitične učinkovitosti za dane teste, opravljene na vseh ciljnih strukturah, potrjujejo 100-odstotno občutljivost, specifičnost in ponovljivost.

Kat. št.	Opis izdelka	Cilj	Specifičnost znotraj testa	Občutljivost znotraj testa	Specifičnost med testi	Občutljivost med testi
HT1001	Raztopina perjodne kisline	Glivni organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1002	Raztopina boraksa	Glivni organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1003	Srebrov metenamin	Glivni organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1004	Raztopina zlatega klorida	Glivni organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1005	Raztopina natrijevega tiosulfata	Glivni organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

Vse posodobljene informacije o tveganju, nevarnosti ali varnosti najdete na varnostnem listu in oznaki izdelka.

HT100A:



- H271: Lahko povzroči požar ali eksplozijo; močna oksidativna snov.
- H302: Zdravju škodljivo pri zaužitju.
- H314: Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- H317: Lahko povzroči alergijsko kožno reakcijo.
- H334 Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju.
- H351: Sum povzročitve raka.
- 360FD: Lahko škoduje plodnosti. Lahko škoduje nerojenemu otroku.
- H373: Lahko škoduje organom (ščitnici) pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti ob zaužitju.
- H412: Dolgotrajno škodljivo za vodne organizme.
- P210: Hraniti ločeno od vročine, vročih površin, isker, odprtega ognja in drugih virov vžiga. Kajenje je prepovedano.
- P273: Preprečiti sproščanje v okolje.
- P280: Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P303 + P361 + P353: PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.
- P304 + P340 + P310: PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P305 + P351 + P338: PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

Če je med uporabo te naprave ali kot posledica njene uporabe prišlo do resnega incidenta, o tem obvestite proizvajalca in/ali njegovega pooblaščenega zastopnika ter ustrezen državni organ.

Definicije simbolov

Simboli, kot so opredeljeni v standardu EN ISO 15223-1:2021

	Proizvajalec		Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo		Koda serije
	Pooblaščen zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji		Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe		Medicinski diagnostični pripomoček <i>in vitro</i>
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto SigmaAldrich.com. Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu SigmaAldrich.com/techservice.

Zgodovina revizij

Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2022	
Rev. 6.0	2022	Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Pomoč za izjavo o diagnozi je prestavljena v predvideno uporabo. Revidiran je namen uporabe za uskladitev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Dodan je razdelek Opozorila in nevarnosti.
Rev. 7.0	2025	Posodobljeno skladno z dogovorom o poimenovanju. Popravljen stavek o predvideni uporabi. Odstranjeni sklici na določene organizme. Dodani CH-REP in podatki o uvozniku.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Velika črka M, TISSUE-TROL in Sigma-Aldrich so blagovne znamke družbe Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija ali njenih pridruženih družb. Vse druge blagovne znamke so last njihovih lastnikov. Podrobne informacije o blagovnih znamkah so na voljo v javno dostopnih virih.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instrucțiuni de utilizare

Kit de colorare cu argint (argint-metenamină Gomori modificat)

Nr. procedurii HT100

Millipore
Sigma

Domeniu de utilizare

Kitul de colorare cu argint (argint-metenamină Gomori modificat) este destinat utilizării pentru demonstrarea histologică a fungilor, a membranei bazale și a unor organisme oportuniste. Kitul de colorare cu argint (argint-metenamină Gomori modificat) este pentru utilizarea în vederea diagnosticării *in vitro*. Numai pentru uz profesional. Datele obținute prin această procedură calitativă manuală identifică fungi, membrana bazală și anumite organisme oportuniste în probele de țesut provenite de la pacienți. Aceste date, atunci când sunt analizate împreună cu alte teste de diagnosticare și informații, pot fi utilizate ca instrument pentru diagnosticarea infecțiilor fungice.

Procedurile cu argint-metenamină-borat sunt bine documentate.^{1,2} În general, acestea necesită prepararea elaborată a soluției înainte de efectuarea testului. Stabilitatea soluției este limitată și rezultatele variază semnificativ din cauza naturii capricioase a impregnării metalelor și a prelucrării fotografice.

Kitul de colorare cu argint (argint-metenamină Gomori modificat) include o sare de argint-metenamină de lucru stabilă, plus o soluție-tampon, un reactiv de nuanțare și un revelator. Astfel, laboratorul beneficiază de un set unic pentru vizualizarea fungilor, a membranei bazale și a organismelor oportuniste.³⁻⁵ Este inclusă și o soluție de colorare rapidă cu ajutorul unui cuptor cu microunde.³⁻⁶

Pe scurt, peretele celulelor microbilor și polizaharidele din membrana bazală se oxidează, transformându-se în aldehide, prin tratarea cu acid periodic. Grupul de aldehide cu pH alcalin reduce ionul de argint la argint metallic. Clătirea cu săruri de aur formează un complex cu aur mai stabil și excesul de argint este îndepărtat prin spălarea cu tiosulfat.

Reactivi

Soluție de acid periodic (nr. cat. HT1001-100ML)

Acid periodic, 1 g/dl, în apă deionizată

Soluție de borax (nr. cat. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dl, în apă deionizată. Pericol. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

Argint-metenamină (nr. cat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Argint-metenamină, 110 mg/flacon. Pericol. Nociv în caz de înghițire. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca simptome de alergie sau astm sau dificultăți de respirație în caz de inhalare. Susceptibil de a provoca apariția cancerului.

Soluție de clorură de aur (nr. cat. HT1004-100ML)

Clorură de aur, 200 mg/dl, în apă deionizată.

Soluție de tiosulfat de sodiu (nr. cat. HT1005-100ML)

Tiosulfat de sodiu, 2 g/dl, în apă deionizată.

Sunt necesare materiale speciale, dar acestea nu sunt furnizate

- Forceps din plastic sau forceps din metal acoperit cu parafină.
- Lamele de control pozitiv, de exemplu, Fungi TISSUE-TROL™ (nr. cat. TTR004) trebuie incluse în fiecare proces.

Soluții de contracolorare (opțional)

(opțiunile depind de probă și de preferințele individuale)

- Soluție de tartrazină, nr. cat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Soluție de hematoxină Harris, nr. cat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Soluție de eozină Y pe bază de alcool, nr. cat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Soluție de eozină Y pe bază de apă, nr. cat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Soluție de eozină Y pe bază de alcool cu floxină, nr. cat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Numai pentru procedura standard:

- Baie de apă, 62 °C

Numai pentru procedura cu microunde:

- Vase Coplin din plastic cu capac
- Cuptor cu microunde

Depozitare și stabilitate

Păstrați soluția de acid periodic, soluția de lucru argint-metenamină, soluția de clorură de aur și soluția de tiosulfat de sodiu în frigider (2-8 °C).

Păstrați soluția de borax la temperatura ambiantă (18-26 °C). NOTĂ: boraxul poate să formeze un precipitat cât timp este păstrat în frigider. Aduceți-l la temperatura camerei și dizolvați-l din nou înainte de utilizare.

Pe etichetele reactivilor este indicată data expirării.

Preparare

Preparați soluția de lucru argint-metenamină combinând 8 ml de soluție de borax, 100 ml de apă deionizată și conținutul unui flacon de argint-metenamină. Amestecați până la dizolvare. Folosiți o dată, apoi aruncați.

NOTĂ: nu lăsați soluția de lucru argint-metenamină să intre în contact cu metale.

NOTĂ: pentru a efectua două teste cu fiecare flacon, soluția argint-metenamină poate fi dizolvată în 100 ml de apă deionizată și păstrată într-un recipient cu capacul bine strâns. Această soluție rămâne stabilă în frigider (2-8 °C) timp de o lună. Când sunteți gata să o utilizați, luați 50 de ml de soluție argint-metenamină și adăugați 4 ml de soluție de borax. Puneți la loc în frigider soluția argint-metenamină nefolosită.

Preîncălziți toți reactivii la temperatura camerei înainte de utilizare.

Precauții

Dispozitivele pentru DIV incluse în acest kit sunt destinate utilizării pentru diagnosticarea *in vitro* într-un mediu de laborator clinic. Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate exclusiv utilizării profesionale de către personal calificat. Dispozitivele pentru DIV Sigma-Aldrich pot fi folosite de personal de laborator pregătit pentru manipularea de probe provenite de la oameni care pot fi infecțioase, folosirea microscopelor și a altor echipamente de laborator și care percepe culorile și are acuitate vizuală pentru a distinge culorile și alte obiecte la microscop.

Trebuie luate măsurile de precauție normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Eliminați deșeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Lamelele de control Fungi TISSUE-TROL™ sunt probe de țesut de origine animală inclus în bloc de parafină care conțin fungi și trebuie considerate potențial infecțioase.

Procedură

Recoltarea probelor

Nicio metodă de testare cunoscută nu garantează că probele de sânge sau țesut nu va transmite infecții. Prin urmare, toate probele de derivate din sânge sau de țesut trebuie considerate potențial infecțioase.

Fungi și organisme oportuniste precum *P. carinii*

Fixați în formol 10 % tamponat neutru sau în soluția lui Bouin, includeți în bloc de parafină și tăiați secțiuni de 5 microni.¹

Membrana bazală

Fixați în formol 10 % tamponat neutru, în soluția lui Bouin sau a lui Zenker și tăiați secțiuni de parafină de 1-4 microni.¹

Note

Curvele de colorare trebuie spălate cu concentrat lichid de curățare a sticlăriei de laborator Dishbrite, nr. cat. S4107, apoi cu soluție de înălbire, clătite bine cu apă de la robinet, apoi în cel puțin 6 schimburi de apă deionizată.

Dacă se utilizează un cuptor cu microunde, consultați Manualul utilizatorului pentru instrucțiuni.

Procedura standard

1. Preparați soluția de lucru argint-metenamină conform descrierii din secțiunea „Preparare” și adăugați-o în baie de apă la 62 °C.
2. Deparafinați și rehidratați secțiunile de țesut cu apă deionizată.
3. Introduceți secțiunile rehidratate în soluție de acid periodic timp de **5 minute** pentru fungi și organisme oportuniste sau **11 minute** pentru membrana bazală.
4. Scoateți lamelele și clătiți-le cu 6 schimburi de apă deionizată.
5. **Pentru evidențierea fungilor și a organismelor oportuniste**, introduceți lamelele în soluție de lucru argint-metenamină preîncălzită. Examinați la microscop după 20 de minute. Fungii și organismele oportuniste trebuie să aibă culoarea maro închis pe un fundal galben pal. **Pentru evidențierea membranei bazale**, introduceți lamelele în soluție de lucru argint-metenamină preîncălzită. Examinați la microscop după 30 de minute. Membrana bazală trebuie să fie neagră pe un fundal galben închis-marou.
- NOTĂ:** când incubati secțiunile la 62 °C, introduceți un vas Coplin cu apă deionizată în baie de apă la 62 °C. Folosiți această apă pentru clătire înainte de evaluarea de la Pasul 5. Examinați secțiunile la microscop pentru colorarea corespunzătoare la intervalele indicate. Puneți la loc lamelele în soluția de lucru argint-metenamină caldă până când se obține intensitatea dorită.
6. Scoateți lamelele din soluția de lucru argint-metenamină după obținerea colorării structurale corespunzătoare și clătiți-le de 6 ori în apă deionizată la temperatura ambiantă.
7. Nuanțați secțiunile în soluție de clorură de aur timp de **30 de secunde**.
8. Clătiți de 6 ori cu apă deionizată la temperatura ambiantă.
9. Introduceți secțiunile în soluția de tiosulfat de sodiu timp de **2 minute**.
10. Spălați bine sub jet de apă de la robinet.
11. Contracolorați în funcție de preferințele personale cu soluție de tartrazină, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, soluție de hematoxină Harris sau soluție de eozină Y.
12. Deshidratați-le cu alcool, curățați-le în xilen, preparați-le și examinați-le la microscop.

Procedura cu microunde

1. Deparafinați și hidratați lamelele cu apă deionizată.
2. Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de acid periodic într-un vas Coplin din plastic. Acoperiți vasul Coplin cu capacul fără să-l strângeți înainte să îl introduceți în cuptorul cu microunde sau folosiți vase Coplin cu capace cu orificii. Încălziți-l la microunde la **800 wați** timp de **10 secunde**. ***Soluția de acid periodic poate fi refolosită dacă se utilizează la temperatura ambiantă timp de **5 minute** în loc să fie încălzită în cuptorul cu microunde. ***Pentru membrana bazală, durata de incubare a soluției de acid periodic este de **11 minute la temperatura ambiantă**.
3. Scoateți lamelele din soluția de acid periodic și clătiți-le cu 6 schimburi de apă deionizată.
4. Introduceți lamelele în **40 ml** de soluție de lucru argint-metenamină într-un vas Coplin din plastic.
5. **Pentru organisme fungice**, încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **35 de secunde**. Amestecați ușor soluția cu o pipetă Beral sau un bețișor aplicator. Lăsați la incubat **2-3 minute**. După cel mult **2-3 minute**, introduceți lamelele în apă deionizată caldă și verificați evoluția sub microscop. Dacă organismele nu s-au dezvoltat suficient, introduceți la loc lamelele în soluție de lucru argint-metenamină și lăsați-le între **30 de secunde și 1 minut** sau până când capătă nuanța dorită.

Pentru membrana bazală, încălziți-le la microunde la **600 wați** timp de **35 de secunde**. Agitați ușor soluția. Lăsați lamelele la incubat **5 minute**. Încălziți-le la microunde a doua oară la **600 wați** timp de **10 secunde**. Lăsați organismele de pe lamele să se dezvolte **2 minute**. Examinați lamelele la microscop. Dacă organismele de pe lamele nu s-au dezvoltat suficient, repetați ultimul pas până când capătă nuanța dorită.

6. Clătiți lamelele cu 6 schimburi de apă deionizată.
7. Nuanțați lamelele în soluție de clorură de aur timp de **30 de secunde la temperatura ambiantă**.
8. Clătiți lamelele cu 6 schimburi de apă deionizată.
9. Introduceți lamelele în soluție de tiosulfat de sodiu timp de **2 minute la temperatura ambiantă**.
10. Spălați bine sub jet de apă de la robinet.
11. Contracolorați în funcție de preferințele personale cu Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, soluție de tartrazină, soluție de hematoxină Harris sau soluție de eozină Y.
12. Deshidratați-le cu alcool, curățați-le în xilen, preparați-le și examinați-le la microscop.

Caracteristici de performanță

Structura vizată	Rezultatul colorării
Fungi	Maroniu-violet până la negru
Organisme oportuniste	Maroniu-violet până la negru
Membrana bazală	Negru
Fundal	În funcție de contracolorare

Dacă rezultatele observate diferă de rezultatele preconizate, contactați serviciul tehnic Sigma-Aldrich pentru asistență.

Caracteristici de performanță analitică

Rezultatele performanței analitice pentru testele efectuate pentru toate structurile vizate confirmă 100 % sensibilitate, specificitate și repetabilitate.

Nr. cat.	Descrierea produsului	Țintă	Specifi- citatea intra-test	Sensibi- litatea intra-test	Specifi- citatea inter-test	Sensibi- litatea inter-test
HT1001	Soluție de acid periodic	Organisme fungice	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT1002	Soluție de borax	Organisme fungice	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT1003	Argint-metenamină	Organisme fungice	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT1004	Soluție de clorură de aur	Organisme fungice	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
HT1005	Soluție de tiosulfat de sodiu	Organisme fungice	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3

Avertizări și pericole

Consultați Fișa cu date de securitate și eticheta produsului pentru informații actualizate despre riscuri, pericole sau siguranță.

HT100A:



H271: Poate provoca incendiu sau explozie; oxidant puternic.

H302: Nociv în caz de înghițire.

H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii.

H334 Poate provoca simptome de alergie sau astm sau dificultăți de respirație în caz de inhalare

H351: Susceptibil de a provoca apariția cancerului.

360FD: Poate dăuna fertilității. Poate dăuna fătului.

H373: Poate provoca leziuni ale organelor (glanda tiroidă) în caz de expunere prelungită sau repetată dacă este înghițit.

H412: Nociv pentru mediul acvatic, cu efecte pe termen lung.

P210: A se păstra departe de surse de căldură, suprafețe fierbinți, scântei, flăcări și alte surse de aprindere. Fumatul interzis.

P273: Evitați dispersarea în mediu.

P280: Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P303 + P361 + P353: ÎN CAZUL CONTACTULUI CU PIELEA (sau părul): Scoateți-vă imediat toate hainele contaminate. Clătiți pielea cu apă.

P304 + P340 + P310: ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați persoana la aer curat și mențineți-o într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/ un medic.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă sunt prezente și sunt ușor de scos. Continuați să clătiți.

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a folosirii acestuia are loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Definițiile simbolurilor

Simboluri conform definiției din EN ISO 15223-1:2021

	Producător		Număr de catalog
	Consultați Instrucțiunile de utilizare		Codul lotului
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană		Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare		Dispozitiv medical pentru diagnosticarea <i>in vitro</i>
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
	Indică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Istoricul versiunilor

Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2022	
Rev. 6.0	2022	Am trecut la un șablon nou cu elemente de marcă actuale. Am precizat că dispozitivul este pentru uz profesional în secțiunile Domeniu de utilizare și Precauții. Am mutat afirmația despre instrumentul de diagnosticare în secțiunea Domeniu de utilizare. Am modificat secțiunea Domeniu de utilizare pentru a respecta îndrumările IVDR. Am schimbat Fișa tehnică de siguranță în Fișă cu date de securitate. Am actualizat informațiile de contact. Am eliminat instrucțiunile privind respectarea CLSI pentru recoltarea probelor. Am eliminat standardul EN 980 și am adăugat EN ISO 15223-1:2021 pentru simboluri. Am adăugat informații de contact în caz de evenimente adverse. Am adăugat secțiunea Avertizări și pericole.
Rev. 7.0	2025	Am actualizat convenția de denumire. Am revizuit afirmația din secțiunea Domeniu de utilizare. Am eliminat trimeritele la anumite organisme. Am adăugat informații despre reprezentantul autorizat în Elveția și importator.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Inițiala M, TISSUE-TROL și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germania sau ale afiliaților săi. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărcile comerciale sunt disponibile în resurse accesibile publicului.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Upute za upotrebu

Komplet srebrnog bojila (modificirani GMS)

Postupak br. HT100



Predviđena namjena

Komplet srebrnog bojila (modificirani GMS) namijenjen je za uporabu u histološkoj demonstraciji gljivica, bazalne membrane i nekih oportunističkih organizama. Komplet srebrnog bojila (modificirani GMS) namijenjen je za „*in vitro* dijagnostičku upotrebu”. Samo za profesionalnu upotrebu. Podaci dobiveni iz ovog ručnog, kvalitativnog postupka identificiraju gljivice, bazalnu membranu i neke oportunističke organizme u uzorcima tkiva ljudskih uzoraka. Kada se pregledaju zajedno s drugim dijagnostičkim testovima i informacijama, ovi se podaci mogu upotrijebiti kao pomoć u dijagnosticiranju gljivičnih infekcija.

Postupci srebro-metenamin-borat dobro su dokumentirani.^{1,2} Općenito, oni zahtijevaju detaljnu pripremu otopine prije provođenja ispitivanja. Stabilnost otopine je ograničena, a rezultati se znatno razlikuju zbog hirovite prirode impregnacije metala i fotografskog razvoja.

Komplet srebrnog bojila (modificirani GMS) sadrži stabilnu radnu sol srebrnog metenamina zajedno s puferom, reagensom za toniranje i razvijajućem. To laboratoriju pruža jedinstveno pakiranje za vizualizaciju gljivica, bazalne membrane i oportunističkih organizama.³⁻⁵ Uključena je primjena za brzo bojenje pomoću mikrovalne pećnice.³⁻⁶

Ukratko, polisaharidi mikrobne stanične stijenke i bazalne membrane oksidiraju u aldehide tretiranjem periodičnom kiselinom. Aldehidna skupina, pri alkalnom pH, reducira ione srebra u metalno srebro. Ispiranje zlatnim solima stvara stabilniji zlatni kompleks, a višak srebra uklanja se ispiranjem tiosulfatom.

Reagensi

Otopina periodične kiseline (kat. br. HT1001 – 100 ML)

Periodična kiselina, 1 g/dl, u deioniziranoj vodi

Otopina boraksa (kat. br. HT1002 – 100 ML)

Boraks, 5 g/dl, u deioniziranoj vodi. Opasnost. Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju. Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

Srebrov metenamin (kat. br. HT1003 – 1 VL; HT1003 – 6 VL)

Srebrov metenamin, 100 mg/bočica. Opasnost. Štetno ako se proguta. **Uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.** Može uzrokovati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem ako se udiše. Sumnja se da uzrokuje rak.

Otopina zlatnog klorida (kat. br. HT1004 – 100 ML)

Zlatni klorid, 200 mg/dl, u deioniziranoj vodi.

Otopina natrijevog tiosulfata (kat. br. HT1005 – 100 ML)

Natrijev tiosulfat, 2 g/dl, u deioniziranoj vodi.

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Plastični forceps ili metalni forceps obložen parafinom.
- Pri svakoj upotrebi potrebno je uključiti stakalca s pozitivnom kontrolom kao što je TISSUE-TROL™ za gljivice (kat. br. TTR004).

Kontrastacije (opcionally)

(izbor ovisi o uzorku i individualnim preferencijama)

- Otopina tartrazina, kat. br. HT302 [HT3024 – 120 ML; HT3028 – 250 ML]
- Harrisova otopina hematoksilina, kat. br. HHS [HHS16 – 500 ML; HHS32 – 1 L; HHS80 – 2,5 L; HHS128 – 4 L]
- Alkoholna otopina eozina Y, kat. br. HT1101 [HT110116 – 500 ML; HT110132 – 1 L; HT110180 – 2,5 L; HT110128 – 4 L]
- Vodena otopina eozina Y, kat. br. HT1102 [HT110216 – 500 ML; HT110232 – 1 L; HT110280 – 2,5 L; HT1102128 – 4 L]
- Alkoholna otopina eozina Y s floksinom, kat. br. HT1103 [HT110316 – 500 ML; HT110332 – 1 L; HT110380 – 2,5 L; HT1103128 – 4 L]
- Brza zelena FCF
- Svijetlozelena SF žučkasta

Samo za standardni postupak:

- Vodena kupelj, 62 °C

Samo za postupak s mikrovalnom pećnicom:

- Plastične posude s poklopcima za bojenje histoloških preparata
- Mikrovalna pećnica

Pohrana i stabilnost

Čuvajte otopinu periodične kiseline, radnu otopinu srebrnog metenamina, otopinu zlatnog klorida i otopinu natrijevog tiosulfata u hladnjaku (2 – 8 °C).

Čuvajte otopinu boraksa na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C). NAPOMENA: boraks se može taložiti tijekom čuvanja u hladnjaku. Prije uporabe zagrijte na sobnu temperaturu i ponovno otopite.

Naljepnice na reagensima imaju navedene datume isteka roka trajanja.

Priprema

Pripremite radnu otopinu srebrnog metenamina kombiniranjem 8 ml otopine boraksa, 100 ml deionizirane vode i sadržaja jedne bočice srebrnog metenamina. Miješajte dok se ne otopi. Upotrijebite jednom, zatim odložite u otpad.

NAPOMENA: ne dopustite da radna otopina srebrnog metenamina dođe u kontakt s metalima.

NAPOMENA: Kako bi se testovi po bočici povećali na dva, srebrov metenamin može se otopiti u 100 ml deionizirane vode i čuvati čvrsto zatvoren. Otopina je stabilna mjesec dana kad se drži u hladnjaku (2 – 8 °C). Kada ste spremni za uporabu, uzmite 50 ml jedne otopine srebrnog metenamina i dodajte 4 ml otopine boraksa. Vratite neiskorišteni dio otopine srebrnog metenamina u hladnjak.

Sve reagense zagrijte na sobnu temperaturu prije upotrebe.

Mjere opreza

In vitro dijagnostički medicinski proizvodi uključeni u ovaj komplet namijenjeni su *in vitro* dijagnostičkoj uporabi u kliničkom laboratorijskom okruženju. Ti su *in vitro* dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su samo za profesionalnu uporabu od strane kvalificiranog osoblja. *In vitro* dijagnostičkim medicinskim proizvodima tvrtke Sigma-Aldrich može upravljati laboratorijsko osoblje koje je obučeno za rukovanje ljudskim uzorcima koji mogu biti zarazni, upotrebu mikroskopa i druge laboratorijske opreme te koje ima percepciju boja i oštrinu vida za razlikovanje boja i drugih predmeta pod mikroskopom.

Treba se pridržavati uobičajenih mjera opreza koje se primjenjuju pri rukovanju laboratorijskim reagensima. Odložite otpad poštujući sve lokalne, državne, pokrajinske ili nacionalne propise.

Stakalca s pozitivnom kontrolom TISSUE-TROL™ za gljivice su životinjsko tkivo uronjeno u parafin koje sadrži gljivice i treba ih smatrati potencijalno zaraznim.

Postupak

Prikupljanje uzorka

Nijedna poznata metoda ispitivanja ne može pružiti potpunu sigurnost da uzorci krvi ili tkiva neće prenijeti infekciju. Stoga se svi krvni derivati ili uzorci tkiva trebaju smatrati potencijalno zaraznima.

Gljivice i oportunistički organizmi kao što je *P. carinii*

Fiksirajte u 10 %-tnom neutralnom puferiranom formalinu ili Bouinovoju otopini, ugradite u parafin i izrežite presjeke od 5 mikrona.¹

Bazalna membrana

Fiksirajte u 10 %-tnom neutralnom puferiranom formalinu, Bouinovoju ili Tenkerovoju otopini, i izrežite parafinske presjeke od 1 do 4 mikrona.¹

Napomene

Posude za bojanje treba prati u tekućem koncentratu za čišćenje laboratorijskog staklenog posuda Dishbrite, kat. br. S4107, zatim u otopini izbjeljivača, dobro isprati u vodovodnoj vodi, a zatim u najmanje 6 izmjena deionizirane vode.

Ako se upotrebljava mikrovalna pećnica, upute potražite u Priručniku za vlasnika.

Standardni postupak

- Pripremite radnu otopinu srebrnog metenamina kako je opisano u odjeljku „Priprema” i stavite je u vodenu kupelj na 62 °C.
- Deparafinizirajte presjeke tkiva i rehidrirajte do deionizirane vode.
- Stavite rehidrirane presjeke u otopinu periodične kiseline na **5 minuta** za gljivice i oportunističke organizme ili **11 minuta** za bazalnu membranu.
- Uklonite stakalca i isperite u 6 izmjena deionizirane vode.
- Za demonstraciju gljivica i oportunističkih organizama** stavite stakalca u unaprijed zagrijanu radnu otopinu srebrnog metenamina. Pregledajte pod mikroskopom nakon 20 minuta. Gljivice i oportunistički organizmi trebali bi biti tamnosmeđi u odnosu na blijedožutu pozadinu.
- Za demonstraciju bazalne membrane** stavite stakalca u unaprijed zagrijanu radnu otopinu srebrnog metenamina. Pregledajte pod mikroskopom nakon 30 minuta. Bazalna membrana trebala bi biti crna u odnosu na tamnu žuto-smeđu pozadinu.
- NAPOMENA:** Tijekom inkubacije presjeka na 62 °C, stavite posudu za bojenje histoloških preparata koja sadrži deioniziranu vodu u vodenu kupelj na 62 °C. Koristite ovu vodu za ispiranje prije procjene u koraku 5. Mikroskopski pregledajte dijelove za odgovarajuće bojenje u navedenim intervalima. Vratite slajdove u toplu radnu otopinu srebrnog metenamina dok se ne postigne željeni intenzitet.
- Uklonite stakalca iz radne otopine srebrnog metenamina nakon postizanja odgovarajućeg strukturnog bojenja i isperite 6 puta u deioniziranoj vodi sobne temperature.
- Tonirajte presjeke u otopini zlatnog klorida **30 sekundi**.
- Isperite 6 puta u deioniziranoj vodi sobne temperature.
- Stavite presjeke u otopinu natrijevog tiosulfata na **2 minute**.
- Dobro isperite pod mlazom vodovodne vode.
- Kontrastirajte prema osobnim preferencijama otopinom tartrazina, brzim zelenim FCF-om, svijetlozelenim SF-om žučkastim, Harrisovom otopinom hematoksilina ili otopinom eozina Y.
- Dehidrirajte u alkoholu, provijetlite u ksilenu, postavite stakalca i pregledajte pod mikroskopom.

Postupak s mikrovalnom pećnicom

- Deparafinizirajte stakalca i hidrirajte do deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** otopine periodične kiseline u plastične posude za bojenje histoloških preparata. Lagano zatvorite posudu za bojenje histoloških preparata poklopcem prije stavljanja u pećnicu ili upotrijebite poklopce za posude za bojenje s ubušanim otvorima. Stavite u mikrovalnu pećnicu na jačinu od **800 vata na 10 sekundi**. ***Otopina periodične kiseline može se ponovno upotrijebiti ako se koristi na sobnoj temperaturi **5 minuta** umjesto u mikrovalnoj pećnici. ***Za bazalnu membranu, vrijeme inkubacije otopine periodične kiseline je **11 minuta na sobnoj temperaturi**.
- Uklonite stakalca iz otopine periodične kiseline i isperite u 6 izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u **40 ml** radne otopine srebrnog metenamina u plastičnu posudu za bojenje histoloških preparata.
- Za gljivične organizme** stavite u mikrovalnu pećnicu na **600 vata** u trajanju od **35 sekundi**. Nježno promiješajte otopinu beralnom pipetom ili aplikatorskim štapićem. Inkubirajte **2 – 3 minute**. Nakon ne više od **2 do 3 minute**, stavite stakalca u toplu deioniziranu vodu i mikroskopski provjerite razvoj. Ako organizmi nisu dovoljno razvijeni, vratite stakalca u radnu otopinu srebra i ostavite da odstoje **30 sekundi do 1 minute** ili dok se ne postigne željeni ton.

Za bazalnu membranu stavite u mikrovalnu pećnicu na **600 vata** u trajanju od **35 sekundi**. Nježno agitirajte otopinu. Ostavite stakalca da se inkubiraju **5 minuta**. Stavite u mikrovalnu pećnicu drugi put na **600 vata** u trajanju od **10 sekundi**. Pustite stakalca da se razvijaju **2 minute**. Pregledajte stakalca pod mikroskopom. Ako stakalca nisu dovoljno razvijena, ponovite posljednji korak dok se ne postigne željeni ton.

- Isperite stakalca u 6 izmjena deionizirane vode.
- Tonirajte stakalca u otopini zlatnog klorida **30 sekundi pri sobnoj temperaturi**.
- Isperite stakalca u 6 izmjena deionizirane vode.
- Stavite stakalca u otopinu natrijevog tiosulfata **2 minute pri sobnoj temperaturi**.

10. Dobro isperite pod mlazom vodovodne vode.
11. Kontrastirajte prema osobnim preferencijama , brzim zelenim FCF-om, svijetlozelenim SF-om žučkastim, otopinom tartrazina, Harrisovom otopinom hematoksilina ili otopinom ezozina Y.
12. Dehidrirajte u alkoholu, prosvijetlite u ksilenu, postavite stalcalca i pregledajte pod mikroskopom.

Značajke performansi

Ciljna struktura	Rezultat bojenja
Glijovice	Ljubičasto-smeđa do crna
Oportunistički organizmi	Ljubičasto-smeđa do crna
Bazalna membrana	Crna
Pozadina	Ovisi o sredstvu za kontrastiranje

Ako se uočeni rezultati razlikuju od očekivanih, obratite se tehničkoj službi tvrtke Sigma-Aldrich za pomoć.

Značajke analitičkih performansi

Rezultati analitičkih performansi za navedena ispitivanja provedena na svim ciljnim strukturama potvrđuju 100 % osjetljivost, specifičnost i ponovljivost.

Kat. br.	Opis proizvoda	Cilj	Specifičnost unutar testa	Osjetljivost unutar testa	Specifičnost između testova	Osjetljivost između testova
HT1001	Otopina periodične kiseline	Glijivični organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1002	Otopina boraksa	Glijivični organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1003	Srebrov metenamin	Glijivični organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1004	Otopina zlatnog klorida	Glijivični organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
HT1005	Otopina natrijevog tiosulfata	Glijivični organizmi	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Upozorenja i opasnosti

Pogledajte Sigurnosno-tehnički list i oznake na proizvodu za sve ažurirane informacije o riziku, opasnosti ili sigurnosti.

HT100A:



- H271: može uzrokovati požar ili eksploziju; snažan oksidizator.
- H302: štetno ako se proguta.
- H314: uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju.
- H317: može uzrokovati alergijsku reakciju na koži.
- H334 Može uzrokovati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem ako se udiše.
- H351: sumnja se da uzrokuje rak.
- 360FD: može štetno utjecati na plodnost. Može oštetiti nerođeno dijete.
- H373: može uzrokovati oštećenje organa (štitnjača) kroz produženo ili ponavljano izlaganje ako se proguta.
- H412: štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima.
- P210: držati podalje od vrućine, vrućih površina, iskri, otvorenog plamena i drugih izvora paljenja. Ne pušiti.
- P273: izbjegavati ispuštanje u okoliš.
- P280: Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.
- P303 + P361 + P353: U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi.
- P304 + P340 + P310: U SLUČAJU UDISANJA: premjestiti unesrećenog na svježi zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.
- P305 + P351 + P338: U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

Ako se tijekom uporabe ovog proizvoda ili kao rezultat njegove uporabe dogodila ozbiljna nezgoda, prijavite ju proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom predstavniku i svom nacionalnom tijelu.

Definicije simbola

Simboli u skladu s definicijom u standardu EN ISO 15223-1:2021.

	Proizvođač		Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu		Broj serije
	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji		Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe		In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

Reference

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986.
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983.
6. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi [SigmaAldrich.com](#). Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Povijest izmjena

Rev. 4.0.	2016.
Rev. 5.0.	2022.
Rev. 6.0.	2022.
	Preneseno na novi obrazac s trenutačnom oznakom brenda. Specificirano za profesionalnu upotrebu u dijelu o predviđenoj namjeni i mjerama opreza. Izjava o pomoći pri dijagnostici prebačena u dio o predviđenoj namjeni. Revidirana predviđena namjena radi usklađivanja sa smjernicama IVDR-a. List o sigurnosti materijala ažuriran u Sigurnosno-tehnički list. Ažurirani podaci za kontakt. Uklonjena uputa o praćenju CLSI-a pri uzorkovanju. Uklonjen EN 980 i promijenjen u EN ISO 15223-1:2021 za simbole. Dodane nove informacije za kontakt za štetne događaje. Dodan odjeljak Upozorenja i opasnosti.
Rev. 7.0.	2025.
	Ažurirana konvencija o imenovanju. Revidirana izjava o predviđenoj namjeni. Uklonjene reference na specifične organizme. Dodane informacije o CH-REP i uvozniku.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

EC

REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH

REP

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicijal M, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich su zaštićeni znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka ili njegovih povezanih društava. Svi su drugi zaštićeni znakovi vlasništvo njihovih vlasnika. Detaljne informacije o zaštićenim znakovima dostupne su putem javno dostupnih izvora.

Sigma-Aldrich®

Instrukcja użycia

Zestaw do barwienia srebrem (Zmodyfikowany GMS)

Procedura nr HT100



Przeznaczenie

Zestaw do barwienia srebrem (Zmodyfikowany GMS) jest przeznaczony do stosowania w demonstracji histologicznej grzybów, błony podstawnej i niektórych mikroorganizmów oportunistycznych. Zestaw do barwienia srebrem (Zmodyfikowany GMS) jest przeznaczony do „diagnostyki *in vitro*”. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Dane uzyskane z niniejszej instrukcji, jako procedury jakościowej, służą do identyfikacji grzybów, błony podstawnej i niektórych organizmów oportunistycznych w próbkach tkanek ludzkich. Dane te, w połączeniu z innymi testami diagnostycznymi, mogą być pomocne w diagnozowaniu infekcji grzybiczych.

Procedury z zastosowaniem metenaminy i boranu srebra są dobrze udokumentowane.^{1,2} Zazwyczaj wymagają one skomplikowanego przygotowania roztworu przed wykonaniem testu. Stabilność roztworu jest ograniczona, a wyniki różnią się znacznie ze względu na zmienny charakter impregnacji metalu i wywoływania fotograficznego.

Zestaw do barwienia srebrem (Zmodyfikowany GMS) zawiera stabilną działającą sól metenaminy srebra, bufor, odczynnik tonujący i wywołujący. Zapewnia to laboratorium unikatowy pakiet do wizualizacji grzybów, błon podstawnych i organizmów oportunistycznych.³⁻⁵ W zestawie znajduje się aplikacja do szybkiego barwienia za pomocą kuchenki mikrofalowej.³⁻⁶

W skrócie, polisacharydy ściany komórkowej i błony podstawnej drobnoustrojów są utleniane do aldehydów przez działanie kwasem nadjodowym. Grupa aldehydowa w środowisku alkalicznym redukuje jony srebra do srebra metalicznego. Płukanie solami złota tworzy bardziej stabilny kompleks złota, a nadmiar srebra jest usuwany poprzez wymywanie tiosiarczanem.

Odczynniki

Roztwór kwasu nadjodowego (Nr kat. HT1001-100ML)

Kwas nadjodowy, 1 g/dl, w wodzie dejonizowanej

Roztwór boraksu (Nr kat. HT1002-100ML)

Boraks, 5 g/dl, w wodzie dejonizowanej. Niebezpieczeństwo. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

Metenamina srebra (Nr kat. HT1003-1VL; HT1003-6VL)

Metenamina srebra, 110 mg/fiolkę. Niebezpieczeństwo. Działa szkodliwie po połknięciu. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Może wywoływać objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Podejrzewa się, że powoduje raka.

Roztwór chlorku złota (Nr kat. HT1004-100ML)

Chlorek złota, 200 mg/dl w wodzie dejonizowanej.

Roztwór tiosiarczuanu sodu (Nr kat. HT1005-100ML)

Tiosiarczan sodu, 2 g/dl, w wodzie dejonizowanej.

Specjalne materiały wymagane, ale niedostarczone

- Szczypce plastikowe lub szczypce metalowe powlekane parafiną.
- Za każdym razem należy używać dodatkich preparatów kontrolnych, takich jak Iron TISSUE-TROL™ (nr kat. TTR004).

Barwienie kontrastowe (opcja)

(do wyboru w zależności od próbki i osobistych preferencji)

- Roztwór tetrazyny, nr kat. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Roztwór hematoksyliny Harris, nr kat. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2,5L; HHS128-4L]
- Roztwór eozyny Y, alkoholowy, nr kat. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2,5L; HT1101128-4L]
- Roztwór eozyny Y, wodny, nr kat. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2,5L; HT1102128-4L]
- Roztwór eozyny Y, alkoholowy, z floksyną, nr kat. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2,5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF żółtawy

Tylko w przypadku procedury standardowej:

- Łażnia wodna, 62°C

Tylko w przypadku procedury obróbki z wykorzystaniem mikrofal:

- Plastikowe szlorki do barwienia Coplina z pokrywkami
- Kuchenka mikrofalowa

Przechowywanie i stabilność

Roztwór kwasu nadjodowego, robocza metenamina srebra, roztwór chlorku złota i roztwór tiosiarczuanu sodu należy przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Przechowywać roztwór boraksu w temperaturze pokojowej (18–26°C). UWAGA: Boraks może podczas przechowywania w lodówce tworzyć osad. Przed użyciem doprowadzić do temperatury pokojowej i ponownie rozpuścić.

Na etykietach odczynników znajduje się termin ważności.

Przygotowanie

Przygotować roboczy roztwór metenaminy srebra, łącząc 8 ml roztworu boraksu, 100 ml wody dejonizowanej i zawartość jednej fiołki z metenaminą srebra. Mieszać do rozpuszczenia. Użyć raz, a następnie wyrzucić.

UWAGA: Nie dopuścić do kontaktu roboczego roztworu metenaminy srebra z metalami.

UWAGA: Aby zwiększyć liczbę testów na fiołkę do dwóch, metenaminę srebra można rozpuścić w 100 ml wody dejonizowanej i przechowywać ze szczelnym zamknięciem. Roztwór jest stabilny w przypadku przechowywania w chłodzie (2–8°C) przez 1 miesiąc. Przed użyciem, wziąć 50 ml roztworu metenaminy srebra i dodać 4 ml roztworu boraksu. Niewykorzystaną porcję roztworu metenaminy srebra należy włożyć z powrotem do lodówki.

Przed użyciem podgrzać wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej.

Środki ostrożności

Wyroby znajdujące się w tym zestawie są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro* w klinicznym środowisku laboratoryjnym. Niniejsze wyroby do diagnostyki *in vitro* są przeznaczone do użytku profesjonalnego i powinny być stosowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Wyroby do diagnostyki *in vitro* firmy Sigma-Aldrich mogą być stosowane wyłącznie przez personel laboratorium przeszkolony w zakresie obróbki potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego oraz korzystania z mikroskopów i innego sprzętu laboratoryjnego, a także posiadający zdolność do rozróżniania kolorów i ostrość wzroku niezbędną do rozpoznawania barw i innych obiektów pod mikroskopem.

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności zalecanych w przypadku korzystania z odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować zgodnie ze wszystkimi przepisami prawa miejscowego, stanowego, wojewódzkiego i krajowego.

Płytki kontrolne Fungi TISSUE-TROL™ to zatopione w parafinie tkanki zwierzęce zawierające grzyby i powinny być uważane za potencjalnie zakaźne.

Procedura

Pobieranie próbek

Żadna ze znanych metod testowych nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi lub tkanki nie przeniosą zakażenia. W związku z tym wszystkie pochodne próbek krwi lub tkanek należy uznawać za potencjalne źródło zakażenia.

Grzyby i mikroorganizmy oportunistyczne, takie jak *P. carinii*

Utrwalić w 10% obójnej zbuforowanej formalinie lub roztworze Bouina, zatopić w parafinie i pociąć na skrawki 5 mikronowe.¹

Błona podstawna

Utrwalić w 10% obójnej zbuforowanej formalinie, Roztworze Bouina lub Zenkera i pociąć na skrawki parafinowe 1–4 mikronowe.¹

Uwagi

Nacznia do barwienia należy myć w płynnym koncentracie do czyszczenia szkła laboratoryjnego firmy Dishbrite, nr kat. S4107, następnie roztworem wybielacza, dobrze spłukane wodą wodociągową, a następnie co najmniej 6 zmianami wody dejonizowanej.

W przypadku korzystania z kuchenki mikrofalowej należy zapoznać się z jej instrukcją obsługi.

Procedura standardowa

- Przygotować roboczy roztwór metenaminy srebra zgodnie z opisem w sekcji „Przygotowanie” i umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 62°C.
- Odparafinować skrawki tkanek i ponownie nawodnić je za pomocą wody dejonizowanej.
- Umieścić uwodnione skrawki w roztworze kwasu nadjodowego na **5 minut** w przypadku grzybów i organizmów oportunistycznych lub **11 minut** w przypadku błony podstawnej.
- Wyjąć płytki i przepłukać 6 zmianami wody dejonizowanej.
- Aby wykazać obecność grzybów i mikroorganizmów oportunistycznych**, umieścić płytki we wcześniej podgrzanym roboczym roztworze metenaminy srebra. Sprawdzić mikroskopowo po 20 minutach. Grzyby i drobnoustroje oportunistyczne powinny mieć kolor ciemnobrązowy na bladej tle.
Aby wykazać obecność błony podstawnej, umieścić płytki we wcześniej podgrzanym roboczym roztworze metenaminy srebra. Sprawdzić mikroskopowo po 30 minutach. Błona podstawna powinna być czarna na ciemnym żółto-brązowym tle.
- UWAGA:** Inkubując skrawki w temperaturze 62°C, umieścić szlorki do barwienia Coplina z wodą dejonizowaną w łaźni wodnej o temperaturze 62°C. Użyć tej wody do płukania przed oceną na etapie 5. Skrawki badać mikroskopowo pod kątem odpowiedniego barwienia w określonych odstępach czasu. Przełożyć płytki z powrotem do ogrzania roboczego roztworu metenaminy srebra, aż do uzyskania pożądanej intensywności.
- Wyjąć płytki z roboczego roztworu metenaminy srebra po osiągnięciu odpowiedniego barwienia strukturalnego i płukać 6 razy w wodzie dejonizowanej o temperaturze pokojowej.
- Moczyć skrawki w roztworze chlorku złota przez **30 sekund**.
- 6 razy przepłukać w wodzie dejonizowanej o temperaturze pokojowej.
- Umieścić skrawki w roztworze tiosiarczuanu sodu na **2 minuty**.
- Umyć dokładnie pod bieżącą wodą wodociągową.
- Barwienie kontrastowe zgodnie z osobistymi preferencjami za pomocą roztworu tartrazyny, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, roztworu hematoksyliny Harris lub roztworu eozyny Y.
- Odwozić alkoholem, klarować w ksylenie, zamknąć i obejrzeć pod mikroskopem.

Procedura obróbki w kuchenke mikrofalowej

- Odparafinować i uwodnić preparaty w wodzie dejonizowanej.
- Umieścić preparaty w **40 ml** roztworu Periodic Acid Solution zawartych w plastikowym szlorku do barwienia Coplina. Luźno przykryć szlorki do barwienia Coplina pokrywką przed włożeniem do kuchenki mikrofalowej lub użyć szlorków Coplina z otworami wywierconymi w pokrywach. Podgrzewać z wykorzystaniem mocy **800 watów** przez **10 sekund**. ***Roztwór kwasu nadjodowego można użyć ponownie, jeśli jest używany w temperaturze pokojowej przez **5 minut** zamiast podgrzewania w kuchenke mikrofalowej. ***W przypadku błon podstawnych: czas inkubacji w roztworze kwasu nadjodowego wynosi **11 minut w temperaturze pokojowej**.
- Wyjąć płytki z roztworu kwasu nadjodowego i spłukać w 6 zmianach wody dejonizowanej.
- Umieścić płytki w **40 ml** roboczego roztworu metenaminy srebra zawartego w plastikowym szlorku do barwienia Coplina.
- W przypadku grzybów** umieścić w mikrofalach o mocy **600 watów** na **35 sekund**. Delikatnie wycisnąć roztwór za pomocą pipety beralowej lub aplikatora płaskiego. Inkubować przez **2–3 minuty**. Nie dłużej niż po **2 do 3 minutach** umieścić płytki w ciepłej wodzie dejonizowanej i sprawdzić wywołanie pod mikroskopem. Jeśli mikroorganizmy nie są wystarczająco rozwinięte, należy przenieść płytki z powrotem do roboczego roztworu metenaminy srebra i odstawić na **30 sekund** do **1 minuty** lub do momentu uzyskania pożądanego odcienia.

W przypadku błony podstawnej umieścić w mikrofalach o mocy **600 watów** na **35 sekund**. Delikatnie wstrząsnąć roztworem. Pozostawić płytki do inkubacji **5 minut**. Umieścić drugi raz w zasięgu mikrofal o mocy **600 watów** na **10 sekund**. Wywoływać płytki przez **2 minuty**. Sprawdzić płytki pod mikroskopem. Jeśli płytki nie są wystarczająco wywołane, powtórzyć ostatnią czynność do uzyskania pożądanego odcienia.

- Oplukać płytki w 6 zmianach wody dejonizowanej.
- Umieścić w roztworze chlorku złota na **30 sekund** w **temperaturze pokojowej**.
- Oplukać płytki w 6 zmianach wody dejonizowanej.

9. Umieścić płytki w roztworze tiosiarczanu sodu na **2 minuty w temperaturze pokojowej**.
10. Umyć dokładnie pod bieżącą wodą wodociagową.
11. Barwienie kontrastowe zgodnie z osobistymi preferencjami za pomocą Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, roztworu tartrazyny, roztworu hematoksyliny Harris'a lub roztworu eoyny Y.
12. Odwodnić alkoholom, klarować w ksylenie, zamknąć i obejrzeć pod mikroskopem.

Charakterystyka wydajności

Struktura docelowa	Kolor
Grzyby	Purpurowobrązowy do czarnego
Mikroorganizmy oportunistyczne	Purpurowobrązowy do czarnego
Błona podstawna	Czarny
Tło	W zależności od barwienia kontrastowego

Jeśli uzyskane wyniki różnią się od spodziewanych, prosimy o skontaktowanie się z serwisem technicznym firmy Sigma-Aldrich w celu uzyskania pomocy.

Charakterystyka wydajności analitycznej

Badania w zakresie wydajności analitycznej danych testów przeprowadzone względem wszystkich struktur docelowych potwierdzają 100-procentową czułość, swoistość i powtarzalność.

Nr kat.	Opis produktu	Struktura docelowa	Swoistość w obrębie testu	Czułość w obrębie testu	Swoistość między testami	Czułość między testami
HT1001	Periodic Acid Solution	Organizmy grzybowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1002	Roztwór boraksu	Organizmy grzybowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1003	Metenamina srebra	Organizmy grzybowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1004	Roztwór chlorku złota	Organizmy grzybowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1005	Roztwór tiosiarczanu sodu	Organizmy grzybowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Ostrzeżenia i zagrożenia

Informacje na temat aktualnych zagrożeń i środków ostrożności można znaleźć w Karcie charakterystyki substancji oraz etykiecie produktu.

HT100A:



- H271: Może spowodować pożar lub wybuch; silny utleniacz.
- H302: Działa szkodliwie po połknięciu.
- H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
- H317: Może powodować alergiczną reakcję skórą.
- H334 Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.
- H351: Podejrzuwa się, że powoduje raka.
- 360FD: Może mieć negatywny wpływ na płodność. Może spowodować obrażenia u nienarodzonego dziecka.
- H373: Może powodować uszkodzenie narządów (tarczycę) poprzez długotrwałe lub narażenie powtarzane w przypadku połknięcia.
- H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
- P210: Przechowywać z dala od źródeł ciepła, gorących powierzchni, źródeł iskrzenia, otwartego ognia i innych źródeł zapłonu. Nie palić.
- P273: Unikać uwolnienia do środowiska.
- P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
- P303 + P361 + P533: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.
- P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCIEK/lekarzem.
- P305 + P351 + P338: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

Jeśli podczas lub w wyniku stosowania tego wyrobu dojdzie do poważnego incydentu, prosimy o zgłoszenie go do producenta i/lub jego autoryzowanego przedstawiciela oraz właściwych organów krajowych.

Definicje symboli

Symboly są zgodne z definicjami pochodzącymi normy EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kod partii
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej		Deklaracja zgodności Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia		Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przeostroga
	Data produkcji		Importer
	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com](#). Pomoc Serwisu Technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Poprzednie wersje

Wer. 4.0	2016 r.
Wer. 5.0	2022 r.
Wer. 6.0	2022 r. Przeniesiono do nowego szablonu z aktualnymi oznaczeniami marki. Uwzględniono informację o tym, że wyrób jest przeznaczony do użytku profesjonalnego w częściach „Przeznaczenie” i „Środki ostrożności”. Przeniesiono oświadczenie o wspomaganiu diagnostyki do części „Przeznaczenie”. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie” w celu uwzględnienia wytycznych IVDR. Zaktualizowano nazwę „Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej” na „Karcie charakterystyki substancji”. Zaktualizowano dane kontaktowe. Usunięto instrukcję dotyczącą pobierania próbek zgodnie z wytycznymi CLSI. Usunięto normę EN 980 i zmieniono na EN ISO 15223-1:2021 w części „Symbole”. Dodano dane kontaktowe na potrzeby zgłaszania zdarzeń niepożądanych. Dodano sekcję Ostrzeżenia i zagrożenia.
Wer. 7.0	2025 r. Zaktualizowano konwencje nazewnictwa. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie”. Usunięto odniesienia do określonych organizmów. Dodano informacje dotyczące przedstawiciela na terenie Szwajcarii (CH-REP) i informacje dotyczące importera.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicjał „M”, TISSUE-TROL i Sigma-Aldrich są znakami towarowymi spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy lub jej podmiotów stowarzyszonych. Wszelkie inne znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje dotyczące znaków towarowych można uzyskać z powszechnie dostępnych źródeł.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Инструкции за употреба

Silver Stain (Modified GMS) Kit

Процедура № HT100



Предназначение

Комплектът Silver Stain (Modified GMS) Kit е предназначен за употреба при хистологично демонстриране на фунги, базална мембрана и някои опортюнистични организми. Комплектът Silver Stain (Modified GMS) Kit е предназначен за „*in vitro* диагностична употреба“. Само за професионална употреба. Данните, получени от тази ръчна качествена процедура, идентифицират фунги, базална мембрана и някои опортюнистични организми в тъканни проби от човешки образци. Тези данни, когато се прегледат заедно с други диагностични тестове и информация, може да са полезни като помощно средство за диагностициране на гъбични инфекции.

Процедурите със сребърен метенамин-борат са добре документирани.^{1,2} Обикновено те изискват сложна подготовка на разтвора преди извършване на теста. Стабилността на разтвора е ограничена и резултатите варират значително поради неустойчивостта на металното импрегниране и фотографското проявяване.

Комплектът Silver Stain (Modified GMS) Kit съдържа стабилен работен разтвор на метенамин сребро заедно с буфер, оцветяващ реагент и проявител. Предоставя на лабораториите уникален пакет за визуализиране на фунги, базална мембрана и опортюнистични организми.³⁻⁵ Включено е приложение за бързо оцветяване с помощта на микровълнова фурна.³⁻⁶

Накратко, полизахаридите на микробната клетъчна стена и базалната мембрана се окисляват до алдехиди чрез третиране с периодна киселина. Алдехидната група при алкално pH редуцира сребърния йон до метално сребро. Изплакването със златни соли образува по-стабилен златен комплекс и излишното сребро се отстранява чрез промиване с тиосулфат.

Реагенти

Разтвор на периодна киселина (кат. № HT1001-100ML)
Периодна киселина, 1 g/dL, в дейонизирана вода

Разтвор на боракс (кат. № HT1002-100ML)
Боракс, 5 g/dL, в дейонизирана вода. Опасно. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Сребърен метенамин (кат. № HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Сребърен метенамин, 110 mg/флакон. Опасно. Вреден при поглъщане. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергични или астматични симптоми или затруднения в дишането при вдишване. Предполага се, че причинява рак.

Разтвор на златен хлорид (кат. № HT1004-100ML)
Златен хлорид, 200 mg/dL, в дейонизирана вода.

Разтвор на натриев тиосулфат (кат. № HT1005-100ML)
Натриев тиосулфат, 2 g/dL, в дейонизирана вода.

Необходими специални материали, които не са осигурени

- Пластмасов форцепс или метален форцепс с парафиново покритие.
- При всеки цикъл трябва да се включват положителни контролни предметни стъкла, като например Fungi TISSUE-TROL™ (кат. № TTR004).

Контрастни оцветители (по избор)

(изборът зависи от образаца и индивидуалните предпочитания)

- Разтвор на тартразин, кат. № HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Хематоксилин разтвор на Harris, кат. № NHS [NHS16-500ML; NHS32-1L; NHS80-2.5L; NHS128-4L]
- Еозин Y разтвор, алкохолен, кат. № HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Еозин Y разтвор, воден, кат. № HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Еозин Y разтвор, алкохолен, с флоксин, кат. № HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Бързо зелено FCF
- Светлозелено SF жълтеникаво

Само за стандартна процедура:

- Водна вана, 62°C

Само за микровълнова процедура:

- Пластмасови вани Коплин с капаци
- Микровълнова фурна

Съхранение и стабилност

Съхранявайте разтвора на периодна киселина, работния разтвор на метенамин сребро, разтвора на златен хлорид и разтвора на натриев тиосулфат в хладилник (2 – 8°C).

Съхранявайте разтвора на боракс при стайна температура (18 – 26°C). ЗАБЕЛЕЖКА: Бораксът може да образува утайка по време на съхраняването в хладилник. Поставете на стайна температура и разтворете отново преди употреба.

На етикетите на реагентите е посочен срокът на годност.

Подготовка

Подгответе работен разтвор на метенамин сребро чрез комбиниране на 8 mL разтвор на боракс, 100 mL дейонизирана вода и съдържанието на един флакон метенамин сребро. Смесете до разтваряне. Използвайте веднъж, след това изхвърлете.

ЗАБЕЛЕЖКА: Не допускайте работният разтвор на метенамин сребро да влиза в контакт с метали.
ЗАБЕЛЕЖКА: За да се увеличат тестовите до два с един флакон, метенамин сребро може да се разтвори в 100 mL дейонизирана вода и да се съхранява плътно затворен. Този разтвор е стабилен в продължение на 1 месец, когато се съхранява в хладилник (2 – 8°C). Когато има готовност за използване, вземете 50 mL разтвор на метенамин сребро и добавете 4 mL разтвор на боракс. Върнете неизползваната част на разтвора на метенамин сребро в хладилник. Затоплете предварително всички реагенти до стайна температура преди употреба.

Предпазни мерки

IVD, включени в този комплект, са предназначени за *in vitro* диагностична употреба в клинична лабораторна среда. Тези IVD са само за професионална употреба от квалифициран персонал. С IVD на Sigma-Aldrich може да работи лабораторен персонал, който е обучен да брави с потенциално инфекциозни човешки образци, да използва микроскопи и друго лабораторно оборудване и има цветово възприятие и зрителна острота, за да различава цветовете и други обекти под микроскоп.

При боравене с лабораторни реагенти трябва да се спазват обичайните предпазни мерки. Изхвърляйте отпадъците, като спазвате всички местни, държавни, локални или национални разпоредби.

Контролните предметни стъкла Fungi TISSUE-TROL™ са с включена в парафин животинска тъкан, съдържаща фунги, и трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Процедура

Взимане на проба

Никои известен тестов метод не може да гарантира напълно, че кръвните проби или тъканта няма да пренесат инфекция. Поради това всички кръвни производни или тъканни образци трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Фунги и опортюнистични организми, като *P. carinii*

Фиксирайте в 10% неутрален буфериран формалин или разтвор на Bouin, включете в парафин и нарежете срезове на 5 микрона.¹

Базална мембрана

Фиксирайте в 10% неутрален буфериран формалин или разтвор на Bouin или Zenker и от парафиновото блокче нарежете срезове с дебелина 1 – 4 микрона.¹

Забележки

Съветите за оцветяване трябва да бъдат промити в течен концентрат на почистващ препарат за лабораторни стъклени изделия Dishbrite, кат. № S4107, след това с разтвор на белина, след което трябва да се изплакнат добре в чешмяна вода и след това поне 6 пъти с дейонизирана вода, като след всяко измиване водата се сменя.

Ако се използва микровълнова фурна, моля, вижте ръководството на собственика за инструкции.

Стандартна процедура

1. Подгответе работен разтвор на метенамин сребро, както е описано в раздела „Подготовка“, и поставете във водна вана на 62°C.
2. Депарафинизирайте тъканните срезове и рехидатирайте с дейонизирана вода.
3. Поставете рехидатираните срезове в разтвор на периодна киселина за **5 минути** за фунги и опортюнистични организми или за **11 минути** за базална мембрана.
4. Извадете предметните стъкла и изплакнете с 6 смени на дейонизирана вода.
5. **За демонстриране на фунги и опортюнистични организми** поставете в предварително затоплен работен разтвор на метенамин сребро. Изследвайте под микроскоп след 20 минути. Фунгите и опортюнистичните организми трябва да бъдат тъмнокафяви в бледожълт фон.
За демонстриране на базални мембрани поставете предметните стъкла в предварително затоплен работен разтвор на метенамин сребро. Изследвайте под микроскоп след 30 минути. Базалната мембрана трябва да бъде черна на тъмножълто-кафяв фон.
6. **ЗАБЕЛЕЖКА:** Докато инкубирате срезовете на 62°C, поставете вана Коплин, съдържаща дейонизирана вода, във водна баня на 62°C. Използвайте тази вода за изплакване преди оценката в стъпка 5. Изследвайте срезовете под микроскоп за адекватно оцветяване на посочените интервали. Върнете предметните стъкла в топъл работен разтвор на метенамин сребро до постигане на желаната интензивност.
7. Извадете предметните стъкла от работния разтвор на метенамин сребро след постигане на адекватно оцветяване на структурите и изплакнете 6 пъти в дейонизирана вода със стайна температура.
8. Тонирайте срезовете в разтвор на златен хлорид за **30 секунди**.
9. Изплакнете в дейонизирана вода със стайна температура 6 пъти.
10. Поставете срезовете в разтвор на натриев тиосулфат за **2 минути**.
11. Промийте добре в течаща чешмяна вода.
12. Оцветете контрастно според личните си предпочитания с разтвор на тартразин, бързо зелено FCF, светлозелено SF жълтеникаво, хематоксилин разтвор на Harris или еозин Y разтвор.
13. Дехидратирайте в алкохол, просветлете в ксилен, залейте и изследвайте под микроскоп.

Микровълнова процедура

1. Депарафинизирайте предметните стъкла и хидратирайте с дейонизирана вода.
2. Поставете предметните стъкла в **40 mL** разтвор на периодна киселина в пластмасова вана Коплин. Покрийте хлабаво ваната Коплин с капак, преди да поставите в микровълнова фурна, или използвайте капаци Коплин с пробити дупки в капациите. Сложете в микровълнова фурна при **800 вата за 10 секунди**. ***Разтворът на периодна киселина може да се използва повторно, ако се използва на стайна температура за **5 минути** вместо в микровълнова фурна. ***Времето на инкубиране на разтвор на периодна киселина за базална мембрана е **11 минути на стайна температура**.
3. Извадете предметните стъкла от разтвора на периодна киселина и изплакнете с 6 смени на дейонизирана вода.
4. Поставете предметните стъкла в **40 mL** работен разтвор на сребърен метенамин в пластмасова вана Коплин.
5. **При гъбични организми** сложете в микровълнова фурна на **600 вата за 35 секунди**. Смесете внимателно разтвора с обемна пипета или апликаторна пръчка. Оставете за инкубация за **2 – 3 минути**. След не повече от **2 до 3 минути** поставете предметните стъкла в топла дейонизирана вода и проверете под микроскоп проявяването. Ако организмите не са достатъчно проявени, върнете предметните стъкла в работния разтвор на метенамин сребро и ги оставете за **30 секунди до 1 минута** или докато се постигне желанят тон.

При базална мембрана сложете в микровълнова фурна на **600 вата за 35 секунди**. Внимателно разбъркайте разтвора. Оставете предметните стъкла за инкубация за **5 минути**. Сложете в микровълнова фурна втори пъти при **600 вата за 10 секунди**.

Изчакайте предметните стъкла да се проявят за **2 минути**. Проверете предметните стъкла под микроскоп. Ако предметните стъкла не са достатъчно проявени, повторете последната стъпка, докато се постигне желаният тон.

- 6. Изплакнете предметните стъкла с 6 смени на дейонизирана вода.
- 7. Тонирайте предметните стъкла в разтвор на златен хлорид за **30 секунди** на **стаяна температура**.
- 8. Изплакнете предметните стъкла с 6 смени на дейонизирана вода.
- 9. Поставете предметните стъкла в разтвор на натриев тиосулфат за **2 минути** на **стаяна температура**.
- 10. Промийте добре в течаща чешмяна вода.
- 11. Оцветете контрастно според личните си предпочитания с бързо зелено FCF, светложелено SF жълтеникаво, разтвор на тартазин, хематоксилин разтвор на Harris или еозин Y разтвор.
- 12. Дехидратирайте в алкохол, просветлете в ксилен, залейте и изследвайте под микроскоп.

Работни характеристики

Целева структура	Резултат от оцветяване
Фунги	Пурпурно-кафяво до черно
Опортюнистични организми	Пурпурно-кафяво до черно
Базална мембрана	Черно
Фон	В зависимост от контрастния оцветител

Ако наблюдаваните резултати се различават от очакваните, моля, свържете се с отдела по техническо обслужване на Sigma-Aldrich за съдействие.

Характеристики на аналитичното действие

Резултатите за аналитичното действие за дадените тестове, проведени върху всички целеви структури, потвърждават 100% чувствителност, специфичност и повторямост.

Кат. №	Описание на продукта	Цел	Специфичност в рамките на анализа	Чувствителност в рамките на анализа	Специфичност между анализите	Чувствителност между анализите
HT1001	Разтвор на периодна киселина	Фунги	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT1002	Разтвор на боракс	Фунги	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT1003	Метенамин сребро	Фунги	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT1004	Разтвор на златен хлорид	Фунги	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
HT1005	Разтвор на натриев тиосулфат	Фунги	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3

Предупреждения и опасности

Направете справка с информационния лист за безопасност и етикетирането на продукта за актуализирана информация за риск, опасност или безопасност.

HT100A:



- H271: Може да предизвика пожар или експлозия; силен окислител.
- H302: Вреден при поглъщане.
- H314: Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.
- H317: Може да причини алергична кожна реакция.
- H334: Може да причини алергични или астматични симптоми или затруднения в дишането при вдишване.
- H351: Предполага се, че причинява рак.
- 360FD: Може да увреди оплодителната способност. Може да увреди плода при бременност.
- H373: Може да причини увреждане на органите (щитовидна жлеза) при продължителна или повтаряща се експозиция при поглъщане.
- H412: Вреден за водните организми, с дълготраен ефект.
- P210: Да се пази от топлина, нагорещени повърхности, искри, открит пламък и други източници на запалване. Тютюнопушенето забранено.
- P273: Да се избягва изпускане в околната среда.
- P280: Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.
- P303 + P361 + P353: ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода.
- P304 + P340 + P310: ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.
- P305 + P351 + P338: ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промийте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването.

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Дефиниции на символите

Символи, както са дефинирани в EN ISO 15223-1:2021

	Производител		Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба		Код на партида
	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз		Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност		Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

- 1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- 2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- 3. Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- 4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- 5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- 6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- 7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- 8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Информация за контакт

За да направите поръчка, моля, посетете нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com. За техническо обслужване, моля, посетете страницата за техническо обслужване на нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com/techservice.

Хронология на редакциите

Ред. 4.0	2016 г.	
Ред. 5.0	2022 г.	
Ред. 6.0	2022 г.	Прехвърлено на нов шаблон с текущо брандиране. Посочено за професионална употреба при предназначение и предпазни мерки. Преместено твърдение за помощно средство за диагностициране към предназначението. Редактирана предвидена употреба, за да се приведе в съответствие с насоките за IVDR. Актуализиран информационен лист за безопасност на материалите към информационния лист за безопасност. Актуализирана информация за контакт. Премахната инструкция за следване на CLSI за вземане на образци. Премахнат EN 980 и променен на EN ISO 15223-1:2021 за символи. Добавена информация за контакт при нежелани събития. Добавен раздел „Предупреждения и опасности“.
Ред. 7.0	2025 г.	Актуализирана конвенция за именуване. Преработена декларация за предназначение. Премахнати референции за специфични организми. Добавена информация за CH-REP и вносителя.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Darmstadt, Германия или свързаните дружества на компанията. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки е налична чрез публично достъпни ресурси.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Lietošanas pamācība

Sudraba iekrāsošanas (modificētais GMS) komplekts

Procedūra Nr. HT100



IVD Paredzētais lietojums

Sudraba iekrāsošanas (modificētais GMS) komplekts ir paredzēts izmantošanai sēnīšu, bazālās membrānas un dažu oportūnistisku organismu histoloģiskai uzrādīšanai. Sudraba iekrāsošanas (modificētais GMS) komplekts ir paredzēts *“in vitro* diagnostikai”. Tikai profesionālai lietošanai. Ar šo manuālo, kvalitatīvo procedūru iegūtie dati identificē sēnītes, bazālo membrānu un dažus oportūnistiskus organismus cilvēku audu paraugos. Pārskatīt šos datus kopā ar citiem diagnostikas testiem un informāciju, tos var izmantot kā palīgizdevi sēnīšu infekciju diagnosticēšanai.

Sudraba metenamīna borāta procedūras ir labi dokumentētas.^{1,2} Parasti tām ir nepieciešama rūpīga šķiduma sagatavošana pirms cikla veikšanas. Šķiduma stabilitāte ir ierobežota, un rezultāti ievērojami atšķiras metāla impregnēšanas un fotografēšanas kaprīzā rakstura dēļ.

Sudraba iekrāsošanas (modificētais GMS) komplekts ietver stabilu darba sudraba metenamīna sāli, kā arī buferšķidumu, tonēšanas reaģentu un attīstītāju. Tas nodrošina laboratorijai unikālu paketi sēnīšu, bazālās membrānas un oportūnistisko organismu vizualizēšanai.³⁻⁶ Iekļauta aplikācija ātrai iekrāsošanai, izmantojot mikrovilņu krāsni.³⁻⁶

Īsāk sakot, mikrobu šūnu sienas un bazālās membrānas polisaharīdi tiek oksidēti par aldehīdiem, apstrādājot ar periodskābi. Aldehīda grupa pie sārmaina pH līmeņa reducē sudraba jonu uz metāla sudrabu. Skalojot ar zelta sāļiem, veidojas stabilāks zelta komplekss, un sudraba pārpalikums tiek nogremts ar tiosulfāta mazgāšanu.

Reaģenti

Perjodskābes šķīdums (kat. Nr. HT1001-100ML)
Perjodskābe, 1 g/dL, dejonizētā ūdenī

Boraka šķīdums (kat. Nr. HT1002-100ML)
Boraks, 5 g/dL, dejonizētā ūdenī. Bīstami! Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus. Izmantojot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.

Sudraba metenamīns (kat. Nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Sudraba metenamīns, 110 mg/flakonā. Bīstami! Kaitīgs, ja norij. Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus. Ielpojot var izraisīt alerģiskus vai astmas simptomus vai apgrūtinātu elpošanu. Ir aizdomas, ka var izraisīt vēzi.

Zelta hlorīda šķīdums (kat. Nr. HT1004-100ML)
Zelta hlorīds, 200 mg/dL, dejonizētā ūdenī.

Nātrija tiosulfāta šķīdums (kat. Nr. HT1005-100ML)
Nātrija tiosulfāts, 2 g/dL, dejonizētā ūdenī.

Speciāli nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

- Plastmasas knaibles vai ar parafinu pārklātas metāla knaibles.
- Pozitīvie kontroles priekšmetstiklīņi, piemēram, Fungi TISSUE-TROL™ (kat. Nr. TTR004), jāiekļauj katrā piegāvē.

Atkrāsotāji (izvēles)

(izvēle ir atkarīga no parauga un individuālajām vēlmēm)

- Tartazīna šķīdums, kat. Nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harisa hematoksilīna šķīdums, kat. Nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozīna Y šķīdums, spirtu saturošs, kat. Nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozīna Y šķīdums, ūdens, kat. Nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozīna Y šķīdums, spirtu saturošs, ar floksīnu, kat. Nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Fast Green FCF
- Light Green SF Yellowish

Tikai standarta procedūrai

- Ūdens peldē, 62 °C

Tikai procedūrai mikrovilņu krāsnī

- Plastmasa Koplina trauki ar vāku
- Mikrovilņu krāsns

Uzglabāšana un stabilitāte

Perjodskābes šķīdumu, darba sudraba metenamīnu, zelta hlorīda šķīdumu un nātrija tiosulfāta šķīdumu uzglabājiēt ledusskapī (2–8 °C).

Boraksa šķīdumu uzglabājiēt istabas temperatūrā (18–26 °C). **PIEZĪME:** Boraks var veidot nogulsnes dzesēšanas laikā. Pirms lietošanas uzkaršējiēt līdz istabas temperatūrai un atkārtoti izšķīdiniēt.

Uz reaģentu etiķetēm ir norādīts derīguma termiņš.

Sagatavošana

Sagatavojiēt darba sudraba metenamīna šķīdumu, apvienojiēt 8 mL boraksa šķīduma, 100 mL dejonizēta ūdens un viena sudraba metenamīna flakona saturu. Maisiēt, līdz izšķīst. Izmantojiēt vienu reizi, pēc tam izmetiēt.

PIEZĪME: Neļaujiēt darba sudraba metenamīna šķīdumam nonākt saskarē ar metāliem.

PIEZĪME: Lai palielinātu ciklu skaitu vienā flakonā līdz diviem, sudraba metenamīnu var izšķīdināt 100 mL dejonizēta ūdens un uzglabāt cieši noslēgtu. Šis šķīdums ir stabils, ja to ievieto ledusskapī (2–8 °C) 1 mēnesi. Kad esat gatavi lietošanai, pagemiet 50 mL viena sudraba metenamīna šķīduma un pievienojiēt 4 mL boraksa šķīduma. Neizmanto to sudraba metenamīna šķīduma daļu ielieciet atpakaļ ledusskapī.

Pirms lietošanas visus reaģentus sasildiet līdz istabas temperatūrai.

Piesardzības pasākumi

Šajā komplektā iekļautās IVD ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikai klīniskās laboratorijas vidē. Šis IVD ir paredzēts profesionālai lietošanai un tikai kvalificētam personālam. Sigma-Aldrich IVD drīkst lietot laboratorijas darbinieki, kas apmācīti rīkoties ar varbūtēji infekcioziem cilvēku paraugiem, lietot mikroskopus un citu laboratorijas aprīkojumu, un kuriem ir atbilstoša krāsu uztvere un redzes asums, lai spētu atšķirt krāsas un citus objektus mikroskopā.

Rīkojoties ar laboratorijas reaģentiem, ir jāievēro standarta piesardzības pasākumi. Utilizējiēt atkritumus saskapā ar vietējiem, štata, provinces vai valsts noteikumiem.

Fungi TISSUE-TROL™ kontroles priekšmetstiklīņi ir parafinā iestrādāti dzīvnieku audi, kas satur sēnītes, un tie jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Procedūra

Paraugu ņemšana

Nav zināma neviena metode, kas sniegtu pilnīgu pārliecību, ka ar asins paraugiem vai audiem netiks pārnestas infekcijas. Tāpēc visus asins produktus vai audu paraugus jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Sēnīte un oportūnistiskie organismi, piemēram, *P. carinii*

Fiksējiēt 10 % neitrālā buferētā formalinā vai Buēna šķīdumā, iestrādājiēt parafinā un sagrieziēt 5 mikronu sekcijas.¹

Bazālā membrāna

Fiksējiēt 10 % neitrālā buferētā formalinā, Buēna vai Cenķera šķīdumā un sagrieziēt 1–4 mikronu parafina sekcijas.¹

Piezīmes

Iekrāsošanas trauki jāmazgā Dishbrite šķīdrajā laboratorijas stikla trauku tīrīšanas koncentrātā, kat. Nr. S4107, pēc tam balinātājā šķīdumā, rūpiģi jānoskalo krāna ūdenī un pēc tam vismaz 6 reizes tirā dejonizētā ūdenī.

Ja tiek izmantota mikrovilņu krāsns, skatiet norādījumus Īpašnieķa rokasgrāmatā.

Standarta procedūra

1. Sagatavojiēt darba sudraba metenamīna šķīdumu, kā aprakstīts sadajā “Sagatavošana”, un ieviojiēt to 62 °C ūdens peldē.
2. Deparafiņējiēt audu daļas un rehidrējiēt dejonizētā ūdenī.
3. Ieviojiēt rehidrētās sekcijas perjodskābes šķīdumā uz **5 minūtēm** sēnītēm un oportūnistiskajiem organismiem vai uz **11 minūtēm** bazālās membrānas gadījumā.
4. Nogemiet priekšmetstiklīgus un noskalojiēt 6 reizes tirā dejonizētā ūdenī.
5. **Sēnīšu un oportūnistisko organismu uzrādīšanai** ieviojiēt priekšmetstiklīgus iepriekš uzsildītā darba sudraba metenamīna šķīdumā. Pēc 20 minūtēm pārbaudiēt mikroskopiski. Sēnītēm un oportūnistiskajiem organismiem jābūt tumši brūniem uz gaiši dzeltena fona. **Lai uzrādītu bazālo membrānu**, ieviojiēt priekšmetstiklīgus iepriekš uzsildītā darba sudraba metenamīna šķīdumā. Pēc 30 minūtēm pārbaudiēt mikroskopiski. Bazālajai membrānai jābūt melnai uz tumši dzeltenbrūna fona. **PIEZĪME:** Inkubējiēt sekcijas 62 °C temperatūrā, ieviojiēt Koplina trauku ar dejonizētu ūdeni 62 °C ūdens peldē. Izmantojiēt šo ūdeni skalošanai pirms novērtēšanas 5. soli. Mikroskopiski pārbaudiēt sekcijas, lai konstatētu atbilstošu krāsojumu noteiktos intervālos. Ieviojiēt priekšmetstiklīgus atpakaļ siltā darba sudraba metenamīna šķīdumā, līdz tiek sasniegta vēlamā intensitāte.
6. Izgemiēt priekšmetstiklīgus no darba sudraba metenamīna šķīduma pēc atbilstošās struktūras iekrāsošanās un 6 reizes noskalojiēt istabas temperatūras dejonizētā ūdenī.
7. Tonējiēt sekcijas zelta hlorīda šķīdumā **30 sekundes**.
8. Noskalojiēt istabas temperatūras dejonizētā ūdenī 6 reizes.
9. Ieviojiēt sekcijas nātrija tiosulfāta šķīdumā uz **2 minūtēm**.
10. Rūpiģi nomazģājiēt zem teķošā krāna ūdens.
11. Atkrāsojiēt pēc savām vēlmēm ar tartazīna šķīdumu, Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, Harisa hematoksilīna šķīdumu vai Eozīna Y šķīdumu.
12. Dehidrējiēt spirtā, notīriēt ksilolā, uzstādiēt un pārbaudiēt mikroskopiski.

Procedūra mikrovilņu krāsnī

1. Deparafiņējiēt priekšmetstiklīgus un samitriņiēt ar dejonizētu ūdeni.
2. Ieviojiēt priekšmetstiklīgus **40 mL** perjodskābes šķīduma, kas iepildīts plastmasas Koplina traukā. Pirms ieviošanas mikrovilņu krāsnī brīvi pārklājiēt Koplina trauku ar vāku vai izmantojiēt Koplina traukus ar vākos izurbtiem caurumiem. Ieviojiēt mikrovilņu krāsnī uz **800 vatiem** uz **10 sekundēm**. ***Perjodskābes šķīdumu var izmantot atkārtoti, ja to lieto istabas temperatūrā **5 minūtes**, nevis ievio mikrovilņu krāsnī. ***Bazālajām membrānām perjodskābes šķīduma inkubācijas laiks ir **11 minūtes istabas temperatūrā**.
3. Izgemiēt priekšmetstiklīgus no perjodskābes šķīduma un noskalojiēt 6 reizes tirā dejonizētā ūdenī.
4. Ieviojiēt priekšmetstiklīgus **40 mL** darba sudraba metenamīna šķīdumā, kas atrodas plastmasas Koplina traukā.
5. **Sēnīšu organismiem** ieviojiēt mikrovilņu krāsnī ar **600 vatiem** uz **35 sekundēm**. Viegli samaisiēt šķīdumu ar berala pipeti vai aplikatoru. Ļaujiēt inkubēties **2–3 minūtes**. Pēc ne ilgāk kā **2 līdz 3 minūtēm** ieviojiēt priekšmetstiklīgus siltā dejonizētā ūdenī un pārbaudiēt attīstību mikroskopiski. Ja organismi nav pietiekami attīstīti, ieviojiēt priekšmetstiklīgus atpakaļ darba sudraba metenamīna šķīdumā un ļaujiēt nostāvēties **30 sekundes** līdz **1 minūti** vai līdz tiek sasnieģts vēlamais tonis.

Bazālajai membrānai ieviojiēt mikrovilņu krāsnī ar **600 vatiem** uz **35 sekundēm**. Viegli sakratiēt šķīdumu. Ļaujiēt priekšmetstiklīņiem inkubēties **5 minūtes**. Ieviojiēt otro reizi mikrovilņu krāsnī ar **600 vatiem** uz **10 sekundēm**. Ļaujiēt priekšmetstiklīņiem attīstīties **2 minūtes**. Pārbaudiēt priekšmetstiklīgus mikroskopiski. Ja priekšmetstiklīņi nav pietiekami attīstīti, atkārtojiēt pēdēģo darbību, līdz tiek sasnieģts vēlamais tonis.

6. Noskalojiēt priekšmetstiklīgus 6 reizes tirā dejonizētā ūdenī.
7. Tonējiēt priekšmetstiklīgus zelta hlorīda šķīdumā **30 sekundes istabas temperatūrā**.
8. Noskalojiēt priekšmetstiklīgus 6 reizes tirā dejonizētā ūdenī.
9. Ieviojiēt priekšmetstiklīgus nātrija tiosulfāta šķīdumā uz **2 minūtēm istabas temperatūrā**.
10. Rūpiģi nomazģājiēt zem teķošā krāna ūdens.
11. Atkrāsojiēt pēc savām vēlmēm ar Fast Green FCF, Light Green SF Yellowish, tartazīna šķīdumu vai Harisa hematoksilīna šķīdumu, vai Eozīna Y šķīdumu.
12. Dehidrējiēt spirtā, notīriēt ksilolā, uzstādiēt un pārbaudiēt mikroskopiski.

Veiktspējas raksturlielumi

Mērķa struktūra	Iekrāsošanas rezultāts
Sēnīte	Purpura brūns līdz melns
Oportūnistiskie organismi	Purpura brūns līdz melns
Bazālā membrāna	Melns
Fons	Atkarīgs no atkrāsotāja

Ja novērotie rezultāti atšķiras no gaidāmajiem rezultātiem, lūdzu, sazinieties ar Sigma-Aldrich Tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Analītiskās veiktspējas raksturlielumi

Anālītiskās veiktspējas rezultāti minētajos testos, kas veikti ar visām mērķa struktūrām, apstiprina 100% jutību, specifiskumu un atkārtojamību.

Kat. Nr.	Produkta apraksts	Mērķis	Specifiskums analīzes laikā	Jutība analīzes laikā	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība
HT1001	Perjodskābes šķīdums	Sēnīšu organismi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT1002	Boraka šķīdums	Sēnīšu organismi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT1003	Sudraba metenamīns	Sēnīšu organismi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT1004	Zelta hlorīda šķīdums	Sēnīšu organismi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
HT1005	Nātrija tiosulfāta šķīdums	Sēnīšu organismi	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3

Bīdīnājumi un riski

Jaunāko informāciju par riskiem, bīstamību vai drošumu skatiet Drošības datu lapā un produkta marķējumā.

HT100A:



- H271: Var izraisīt degšanu vai eksploziju, oksidētājs.
- H302: Kaitīgs, ja norij.
- H314: Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.
- H317: Var izraisīt alerģisku ādas reakciju.
- H334: Ja ieelpo, var izraisīt alerģiju vai astmas simptomus, vai apgrūtināt elpošanu.
- H351: Ir aizdomas, ka var izraisīt vēzi.
- 360FD: Var negatīvi ietekmēt auglību. Var nodarīt kaitējumu vēl nedzimušam bērnam.
- H373: Var izraisīt orgānu (vairogdziedzerā) bojājumus ilgstošas vai atkārtotas iedarbības rezultātā.
- H412: Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām.
- P210: Sargāt no karstuma, karstām virsmām, dzirkstelēm, atklātas uguns un citiem aizdegšanās avotiem. Nesmēķēt.
- P273: Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.
- P280: Izmantot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.
- P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni.
- P304 + P340 + P310: IEELPOŠANAS GADĪJUMĀ: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANĀS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.
- P305 + P351 + P338: SASKARĒ AR ACĪM: uzmanīgi izskalo ar ūdeni vairākas minūtes. Izņem kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalo.

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns incidents, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī kompetējai iestādei jūsu valstī.

Simbolu definīcijas

Simboli atbilst definīcijām standartā EN ISO 15223-1:2021

	Ražotājs		Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju		Partijas kods
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā		Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš		Medicīniska ierīce in vitro diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs
	Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē		

Atsauces

1. Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
2. Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
3. Churkian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986

4. Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
5. Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
6. Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
7. Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
8. Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktinformācija

Lai veiktu pasūtījumu, apmeklējiet mūsu tīmekļvietni [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Lai sazinātos ar Tehniskā atbalsta dienestu, apmeklējiet tehniskā atbalsta dienesta lapu mūsu tīmekļvietnē [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Pārskatīto versiju vēsture

Vers. 4.0	2016	
Vers. 5.0	2022	
Vers. 6.0	2022	Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadajā ar paredzēto lietojumu un piesardzības pasākumiem norādīta profesionāla lietošana. Norāde par palīgīdzekli diagnostikā pārvietota uz sadaļu par paredzēto lietojumu. Pārskatīts paredzētais lietojums, lai to pieskaņotu IVDR vadlīnijām. Termins "Materiālu drošības datu lapa" mainīts uz "Drošības datu lapa". Atjaunināta kontaktinformācija. Svītrots norādījums paraugu ņemšanā ievērot CLSI. Svītrots EN 980 un aizstāts ar standartu EN ISO 15223-1:2021 attiecībā uz simboliem. Pievienota kontaktinformācija ziņošanai par nevēlamiem notikumiem. Pievienota sadaļa "Bīdīnājumi un riski".
Vers. 7.0	2025	Atjaunināti nosaukumu veidošanas principi. Pārskatīta norāde par paredzēto lietošanu. Nopemtas atsauces uz konkrētiem organismiem. Pievienots CH-REP un informācija par importētāju.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Iniciālais M, TISSUE-TROL un Sigma-Aldrich ir preču zīmes, kas pieder uzņēmumam Merck KGaA, Darmštātē, Vācijā, vai tā saistītajiem uzņēmumiem. Visas pārējās preču zīmes pieder to attiecīgajiem īpašniekiem. Sīkāka informācija par preču zīmēm sniegta publiski pieejamos avotos.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Naudojimo instrukcija

Sidabro dažymo reagentų (modifikuoto GMS) rinkinys

Procedūros Nr. HT100



Paskirtis

Sidabro dažymo reagentų (modifikuoto GMS) rinkinys skirtas grybeliams, bazinei membranai ir kai kuriems oportunistiniams organizmams histologiškai parodyti. Sidabro dažymo reagentų (modifikuoto GMS) rinkinys yra skirtas *in vitro* diagnostikai. Tik profesionaliam naudojimui. Pagal šios rankinės kokybinės procedūros metu gautus duomenis žmonių audinių mėginiuose nustatomi grybeliai, bazinės membranos ir kai kurie oportunistiniai organizmai. Šie duomenys, peržiūrėti kartu su kitais diagnostiniais tyrimais ir informacija, gali būti naudojami kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant grybelines infekcijas.

Sidabro metenamino borato procedūros yra gerai dokumentuotos.^{1,2} Paprastai prieš atliekant bandymą reikia kruopščiai paruošti tirpalą. Tirpalo stabilumas yra ribotas, o rezultatai labai skiriasi dėl kaprizingo metalo impregnavimo ir fotografinio ryškinimo pobūdžio.

Sidabro dažymo reagento (modifikuoto GMS) rinkinyje yra stabili veiklioji sidabro metenamino druska, taip pat buferinis tirpalas, tonavimo reagentas ir ryškiklis. Tai unikalus laboratorijai pateikiamas paketas, skirtas grybeliams, bazinei membranai ir oportunistiniams organizmams vizualizuoti.³⁻⁵ Komplekte yra greito dažymo mikrobangų krosnelėje programa.³⁻⁶

Trumpai tariant, mikrobų ląstelių sienelių ir bazinių membranų polisacharidai oksiduojami iki aldehidų veikiant perijodine rūgštimi. Aldehidų grupė, esant šarminiam pH, sidabro joną redukuoja iki metalinio sidabro. Skalaujant aukso druskomis susidaro stabilusis aukso kompleksas, o sidabro perteklius pašalinamas plaunant tiosulfatu.

Reagentai

Perijodinės rūgšties tirpalas (kat. Nr. HT1001-100ML)
Perijodinė rūgštis, 1 g/dl, dejonizuotame vandenyje

Borakso tirpalas (kat. Nr. HT1002-100ML)

Boraksas, 5 g/dl, dejonizuotame vandenyje. Pavojus. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Sidabro metenaminas (kat. Nr. HT1003-1VL; HT1003-6VL)
Sidabro metenaminas, 110 mg buteliuke. Pavojus. Kenksminga prarijus. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsinkinti kvėpavimą. Įtariama, kad gali sukelti vėžį.

Aukso chlorido tirpalas (kat. Nr. HT1004-100ML)
Aukso chloridas, 200 mg/dl, dejonizuotame vandenyje.

Natrio tiosulfato tirpalas (kat. Nr. HT1005-100ML)
Natrio tiosulfatas, 2 g/dl, dejonizuotame vandenyje.

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Plastikinės žnyplės arba parafinu dengtos metalinės žnyplės.
- Teigiamos kontrolės stikleliai, pvz., grybelių TISSUE-TROL™ (kat. Nr. TTR004) turėtų būti naudojami kiekviename tyrime.

Kontrastiniai dažai (išgyjami papildomai)

(pasirinkimas priklauso nuo mėginio ir individualių pageidavimų)

- Tartrazino tirpalas, kat. Nr. HT302 [HT3024-120ML; HT3028-250ML]
- Harris hematoksilino tirpalas, kat. Nr. HHS [HHS16-500ML; HHS32-1L; HHS80-2.5L; HHS128-4L]
- Eozino Y tirpalas, alkoholinis, kat. Nr. HT1101 [HT110116-500ML; HT110132-1L; HT110180-2.5L; HT1101128-4L]
- Eozino Y tirpalas, vandeninis, kat. Nr. HT1102 [HT110216-500ML; HT110232-1L; HT110280-2.5L; HT1102128-4L]
- Eozino Y tirpalas, alkoholinis, su floksinu, kat. Nr. HT1103 [HT110316-500ML; HT110332-1L; HT110380-2.5L; HT1103128-4L]
- Greito poveikio žalias FCF
- Šviesiai žalias SF gelsvas

Tik standartinei procedūrai:

- Vandens vonelė, 62 °C

Tik procedūrai mikrobangų krosnelėje:

- Plastikiniai Coplin indeliai su dangteliais
- Mikrobangų krosnelė

Laikymas ir stabilumas

Perijodinės rūgšties tirpalą, darbinį sidabro metenamino, aukso chlorido tirpalą ir natrio tiosulfato tirpalą laikykite šaldytuve (2–8 °C).

Borakso tirpalą laikykite kambario temperatūroje (18–26 °C). PASTABA. Šaldant boraksą gali susidaryti nuosėdų. Prieš naudodami pašildykite iki kambario temperatūros ir vėl ištirpinkite.

Reagentų etiketėse nurodyta galiojimo data.

Pasiruošimas

Paruoškite darbinį sidabro metenamino tirpalą, sumaišydami 8 ml borakso tirpalo, 100 ml dejonizuoto vandens ir vieno sidabro metenamino buteliuko turinį. Maišykite, kol išsirs. Naudokite tik vieną kartą ir išmeskite.

PASTABA. Neleiskite darbiniam sidabro metenamino tirpalui liestis su metalais.

PASTABA. Norint padidinti vieno buteliuko tyrimų skaičių iki dviejų, sidabro metenamino galima ištirpinti 100 ml dejonizuoto vandens ir laikyti sandariai uždarytą. Šis tirpalas šaldytuve (2–8 °C) išlieka stabilus 1 mėnesį. Kai būsitate pasiruošę naudoti, paimkite 50 ml vieno sidabro metenamino tirpalo ir įpilkite 4 ml borakso tirpalo. Nepanardotą sidabro metenamino tirpalo dalį padėkite atgal į šaldytuvą. Prieš naudodami pašildykite visus reagentus iki kambario temperatūros.

Atsargumo priemonės

Šiame rinkinyje esančios IVD medžiagos yra skirtos *in vitro* diagnostikai klinikinės laboratorijos aplinkoje. Šios IVD skirtos naudoti tik kvalifikuotam personalui. Sigma-Aldrich IVD medžiagas gali naudoti laboratorijos darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su žmonių mėginiais, kurie gali būti užkrečiami, naudoti mikroskopus ir kitą laboratorinę įrangą bei turi spalvų suvokimą ir regėjimo aštrumą, kad galėtų atskirti spalvas ir kitus objektus mikroskopu.

Dirbant su laboratoriniais reagentais reikia laikytis įprastų atsargumo priemonių. Išmeskite atliekas laikydamiesi visų vietinių, valstijos, provincijos ar nacionalinių taisyklių.

Grybelių TISSUE-TROL™ kontroliniai stikleliai yra parafine įlieti gyvūnų audiniai, kuriuose yra grybelių, ir jie turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamomis medžiagomis.

Procedūra

Mėginio paėmimas

Joks žinomas tyrimo metodas negali visiškai užtikrinti, kad kraujo mėginiai ar audiniai neperduos infekcijos. Todėl visi kraujo dariniai ar audinių mėginiai turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais.

Grybelis ir oportunistiniai organizmai, tokie kaip *P. carinii*

Fiksuokite 10 % neutraliame buferiniame formaline arba Bouin tirpale, įdėkite į parafiną ir supjaustykite 5 mikronų pjūviais.¹

Bazinė membrana

Fiksuokite 10 % neutraliame buferiniame formaline, Bouin ar Zenker tirpale ir supjaustykite parafiną 1–4 mikronų pjūviais.¹

Pastabos

Dažymo indus reikia plauti „Dishbrite“ skystu laboratorinių stiklo dirbinių plovimo koncentratu, kat. Nr. S4107, po to balikio tirpalu, gerai išplauti vandentiekio vandeniu, po to ne mažiau kaip 6 kartus skalauti pakeičiant dejonizuotą vandenį.

Jei naudojate mikrobangų krosnelę, instrukcijas rasite naudotojo vadove.

Standartinė procedūra

1. Paruoškite darbinį sidabro metenamino tirpalą, kaip aprašyta skyriuje „Paruošimas“, ir įdėkite į 62 °C temperatūros vandens vonelę.
2. Deparafinizuokite audinių pjūvius ir rehidratuokite dejonizuotu vandeniu.
3. Rehidratuotus pjūvius **5 minutes** (jei tiriami grybeliai ir oportunistiniai organizmai) arba **11 minučių** (jei tirama bazinė membrana) palaikykite perijodinės rūgšties tirpale.
4. Išimkite stiklelius ir nuplaukite 6 kartus pakeisdami dejonizuotą vandenį.
5. **Jei norite parodyti grybelius ir oportunistinius organizmus**, įdėkite stiklelius į iš anksto pašildytą darbinį sidabro metenamino tirpalą. Apžiūrėkite mikroskopu po 20 minučių. Grybeliai ir oportunistiniai organizmai turėtų būti tamsiai rudi šviesiai geltoname fone. **Jei norite parodyti bazinę membraną**, įdėkite stiklelius į iš anksto pašildytą darbinį sidabro metenamino tirpalą. Apžiūrėkite mikroskopu po 30 minučių. Bazinė membrana turėtų būti juoda tamsiam geltonai rudame fone.
6. **PASTABA.** Inkubuodami pjūvius 62 °C temperatūroje, įdėkite Coplin indelį su dejonizuotu vandeniu į 62 °C temperatūros vandens vonelę. Šį vandenį naudokite skalavimui prieš atlikdami vertinimą 5 veiksmu. Nurodytais intervalais mikroskopu ištirkite pjūvius, ar jie tinkamai nudažyti. Vėl įdėkite stiklelius į šiltą darbinį sidabro metenamino tirpalą, kol bus pasiektas norimas intensyvumas.
6. Pasiekus pakankamą struktūrinį nusidažymą, išimkite stiklelius iš darbinio sidabro metenamino tirpalo ir 6 kartus skalaukite kambario temperatūros dejonizuotame vandenyje.
7. **30 sekundžių** tonuokite pjūvius aukso chlorido tirpale.
8. Skalaukite kambario temperatūros dejonizuotame vandenyje 6 kartus.
9. Įdėkite pjūvius į natrio tiosulfato tirpalą **2 minutėms**.
10. Gerai nuplaukite po tekančiu čiaupo vandeniu.
11. Pagal asmeninius pageidavimus kontrastiškai dažykite tartrazino tirpalu, greito poveikio žaliu FCF, šviesiai žaliu SF gelsvu, Harris hematoksilino tirpalu arba eozino Y tirpalu.
12. Dehidratuokite alkoholyje, išvalykite ksilene, užfiksuokite ir tirkite mikroskopu.

Mikrobangų krosnelės procedūra

1. Deparafinizuokite stiklelius ir drėkinkite pjūvius dejonizuotu vandeniu.
2. Įdėkite stiklelius į **40 ml** perijodinės rūgšties tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje. Prieš dėdami į mikrobangų krosnelę, laisvai uždenkite Coplin indelį dangteliu arba naudokite Coplin indelius su dangteliais išgręžtomis skylutėmis. **10 sekundžių laikykite 800 vatų** mikrobangų krosnelėje. ***Perijodinės rūgšties tirpalą galima naudoti pakartotinai, jei jis naudojamas kambario temperatūroje **5 minutes**, o ne mikrobangų krosnelėje. ***Tiriant bazines membranas perijodinės rūgšties tirpalo inkubavimo laikas yra **11 minučių kambario temperatūroje**.
3. Išimkite stiklelius iš perijodinės rūgšties tirpalo ir skalaukite 6 kartus pakeisdami dejonizuotą vandenį.
4. Įdėkite stiklelius į **40 ml** darbinio sidabro metenamino tirpalo, esančio plastikiniame Coplin indelyje.
5. **Jei tiriate grybelinius organizmus, 35 sekundes** laikykite **600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Atsargiai sumaišykite tirpalą beralio pipete arba aplikatoriumis lazdele. Leiskite inkubuoti **2–3 minutes**. Praėjus ne daugiau kaip **2–3 minutėms**, įdėkite stiklelius į šiltą dejonizuotą vandenį ir mikroskopu patikrinkite vystymąsi. Jei organizmai nėra pakankamai išsivystę, vėl įdėkite stiklelius į darbinį sidabro metenamino tirpalą ir palikite veikti nuo **30 sekundžių** iki **1 minutės** arba kol bus pasiektas norimas atspalvis.

Jei tiriate **bazinę membraną, 35 sekundes** laikykite **600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Švelniai maišykite tirpalą. Leiskite stikleliams inkubuotis **5 minutes**. Antrą kartą **10 sekundžių** laikykite **600 vatų** mikrobangų krosnelėje. Leiskite stikleliams vystytis **2 minutes**. Mikroskopu patikrinkite stiklelius. Jei stikleliai nėra pakankamai išsivystę, pakartokite paskutinį veiksmą, kol bus pasiektas norimas atspalvis.

6. Nuplaukite stiklelius 6 kartus pakeisdami dejonizuotą vandenį.
7. **30 sekundžių kambario temperatūroje** tonuokite stiklelius aukso chlorido tirpale.
8. Nuplaukite stiklelius 6 kartus pakeisdami dejonizuotą vandenį.
9. Įdėkite stiklelius į natrio tiosulfato tirpalą **2 minutėms kambario temperatūroje**.
10. Gerai nuplaukite po tekančiu čiaupo vandeniu.
11. Pagal asmeninius pageidavimus kontrastiškai dažykite greito poveikio žaliu FCF, šviesiai žaliu SF gelsvu, tartrazino tirpalu, Harris hematoksilino tirpalu arba eozino Y tirpalu.
12. Dehidratuokite alkoholyje, išvalykite ksilene, užfiksuokite ir tirkite mikroskopu.

Veikimo charakteristikos

Tikslinė struktūra	Dažymo rezultatas
Grybeliai	Nuo rausvai rudos iki juodos
Oportunistiniai organizmai	Nuo rausvai rudos iki juodos
Bazinė membrana	Juoda
Fonas	Priklauso nuo kontrastinio dažymo

Jei pastebėti rezultatai skiriasi nuo laukiamų rezultatų, kreipkitės pagalbos į „Sigma-Aldrich“ techninę tarnybą.

Analitinio veikimo charakteristikos

Pateiktų tyrimų, atliktų su visomis tikslinėmis struktūromis, analitinio efektyvumo rezultatai patvirtina 100 % jautrumą, specifiškumą ir pakartojamumą.

Kat. Nr.	Produkto aprašymas	Tikslas	Tyrimo specifiškumas	Jautrumas tyrimo metu	Specifiškumas tarp tyrimų	Jautrumas tarp tyrimų
HT1001	Perijodinės rūgšties tirpalas	Grybeliniai organizmai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT1002	Borakso tirpalas	Grybeliniai organizmai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT1003	Sidabro metenaminas	Grybeliniai organizmai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT1004	Aukso chlorido tirpalas	Grybeliniai organizmai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
HT1005	Natrio tiosulfato tirpalas	Grybeliniai organizmai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Įspėjimai ir pavojai

Atnaujintą rizikos, pavojaus ar saugos informaciją rasite saugos duomenų lape ir gaminio etiketėje.

HT100A:



- H271: Gali sukelti gaisrą arba sprogimą, stiprus oksidatorius.
- H302: Kenksminga prarijus.
- H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.
- H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją.
- H334 Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą.
- H351: Įtariama, kad gali sukelti vėžį.
- 360FD: Gali pakenkti vaisingumui. Gali pakenkti negimusiame kūdikiui.
- H373: Prarijus gali pakenkti organams (skyd liaukei) dėl ilgalaikio ar pakartotinio poveikio.
- H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.
- P210: Laikyti atokiau nuo karščio, karštų paviršių, kibirkščių, atviros liepsnos ir kitų uždegimo šaltinių. Nerūkyti.
- P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką.
- P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.
- P303 + P361 + P353: Patekus ANT ODOS (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu.
- P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: Išnešti žmogų į gryną orą ir pasirūpinti, kad jis galėtų patogiai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojui.
- P305 + P351 + P338: PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

Jei naudojant šį įrenginį arba dėl jo naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo nacionalinei institucijai.

Simbolių apibrėžimai

Simboliai, kaip apibrėžta EN ISO 15223-1:2021

	Gamintojas		Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas		Partijos kodas
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje		Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data		In vitro diagnostikos medicinos priemonė
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981

- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Valle S: Special stains in microwave oven. J Histotechnol 9:237, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje SigmaAldrich.com. Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje SigmaAldrich.com/techservice.

Peržiūrų istorija

4.0 red.	2016
5.0 red.	2022
6.0 red.	2022
	Perkelta į naują šabloną su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemonės. Pagalbinė priemonė perkelta į diagnozės išrašą pagal paskirtį. Peržiūrėta paskirtis, siekiant suderinti su IVDR gairėmis. Atnaujintas medžiagos saugos duomenų lapas į saugos duomenų lapą. Atnaujinta kontaktinė informacija. Pašalintas nurodymas laikyti CLSI dėl mėginių paėmimo. Išimtas EN 980 ir pakeistas į EN ISO 15223-1:2021 simboliams. Pridėta nepageidaujamo įvykio kontaktinė informacija. Pridėtas skyrius „[spėjimai ir pavojai]“.
7.0 red.	2025
	Atnaujintas pavadinimų suteikimo susitarimas. Peržiūrėtas numatytosios paskirties pareiškimas. Pašalintos nuorodos į konkrečius organizmus. Pridėta atstovo Šveicarijoje ir importuotojo informacija.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicialas „M“, „TISSUE-TROL“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija arba jos filialų prekės ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamią informaciją apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose ištekliuose.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Návod na použitie

Súprava strieborného farbiva (modifikované GMS)

Postup č. HT100



Určené použitie

Súprava strieborného farbiva (modifikované GMS) je určená na histologické preukázanie plesní, bazálnej membrány a niektorých oportúnnych organizmov. Súprava strieborného farbiva (modifikované GMS) je určená na „diagnostické použitie *in vitro*“. Len na odborné použitie. Údaje získané týmto manuálnym, kvalitatívnym postupom identifikujú plesne, bazálnu membránu a niektoré oportúnne organizmy v tkanivách z ľudských vzoriek. Tieto údaje sa pri preskúmaní v spojení s ďalšími diagnostickými testami a informáciami môžu použiť ako pomôcka pri diagnostike plesňových infekcií.

Postupy založené na striebornom metenamin-boritane sú dobre zdokumentované.^{1,2} Vo všeobecnosti si vyžadujú zložitú prípravu roztoku pred vykonaním testu výkonu. Stabilita roztoku je obmedzená a výsledky sa výrazne líšia v dôsledku rozmarnej povahy impregnácie kovov a vyvolávania fotografií.

Súprava strieborného farbiva (modifikované GMS) obsahuje stabilnú pracovnú soľ strieborného metenaminu spolu s pufrom, farbiacou reagensiou a vývojkou. To poskytuje laboratóriu jedinečné balenie na vizualizáciu plesní, bazálnej membrány a oportúnnych organizmov.^{3,5} Súčasťou je aplikácia na rýchle farbenie pomocou mikrovlnnej rúry.³⁻⁶

Polysacharidy mikrobiálnej bunkovej steny a bazálnej membrány sa oxidujú na aldehydy pôsobením kyseliny jodistej. Aldehydová skupina pri alkalickom pH redukuje strieborný ión na kovové striebro. Oplachovaním soľami zlata sa vytvorí stabilnejší komplex zlata a prebytočné striebro sa odstráni umytím tiosíranom.

Reagencie

Roztok kyseliny jodistej (kat. č. HT1001-100ML)

Kyselina jodistá, 1 g/dl, v deionizovanej vode

Roztok boraxu (kat. č. HT1002-100ML)

Borax, 5 g/dl, v deionizovanej vode. Nebezpečenstvo. Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

Strieborný metenamin (kat. č. HT1003-1VL, HT1003-6VL)

Strieborný metenamin, 110 mg/liekovka. Nebezpečenstvo. Škodlivé po požití. Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. Môže spôsobiť alergické alebo astmatické príznaky alebo dýchacie ťažkosti pri vdýchnutí. Podozrenie, že spôsobuje rakovinu.

Roztok chloridu zlatitého (kat. č. HT1004-100ML)

Chlorid zlatitý, 200 mg/dl, v deionizovanej vode.

Roztok tiosíranu sodného (kat. č. HT1005-100ML)

Tiosíran sodný, 2 g/dl, v deionizovanej vode.

Potrebné špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia

- Plastové kliešte alebo kovové kliešte pokryté parafrónom.
- Pozitívne kontrolné sklíčka, ako napríklad Fungi TISSUE-TROL™ (kat. č. TTR004), majú byť súčasťou každého cyklu.

Kontrastné farbivá (voliteľné)

(výber závisí od vzorky a individuálnych preferencií)

- Roztok tartrazínu, kat. č. HT302 [HT3024-120ML, HT3028-250ML]
- Harrisov roztok hematoxylínu, kat. č. HHS [HHS16-500ML, HHS32-1L, HHS80-2,5L, HHS128-4L]
- Roztok eoínu Y, alkoholový, kat. č. HT1101 [HT110116-500ML, HT110132-1L, HT110180-2,5L, HT1101128-4L]
- Roztok eoínu Y, vodný, kat. č. HT1102 [HT110216-500ML, HT110232-1L, HT110280-2,5L, HT1102128-4L]
- Roztok eoínu Y, alkoholový, s floxínom, kat. č. HT1103 [HT110316-500ML, HT110332-1L, HT110380-2,5L, HT1103128-4L]
- Rýchla zelená FCF
- Svetlozelená SF žltkastá

Iba pre štandardný postup:

- Vodný kúpeľ, 62 °C

Iba pre mikrovlnný postup:

- Plastové nádoby Coplin s viečkami
- Mikrovlnná rúra

Skladovanie a stabilita

Roztok kyseliny jodistej, pracovný roztok strieborného metenaminu, roztok chloridu zlatitého a roztok tiosíranu sodného skladujte v chladničke (2 – 8 °C).

Roztok boraxu skladujte pri izbovej teplote (18 – 26 °C). POZNÁMKA: Borax môže počas chladenia vytvárať zrazeniny. Pred použitím ho uveďte do izbovej teploty a znovu rozpustite.

Na etiketách reagensie je uvedený dátum expirácie.

Príprava

Prípravte pracovný roztok strieborného metenaminu zmiešaním 8 ml roztoku boraxu, 100 ml deionizovanej vody a obsahu jednej liekovky so strieborným metenaminom. Premiešajte, kým sa nerozpustí. Po jednom použití zlikvidujte.

POZNÁMKA: Zabráňte kontaktu pracovného roztoku strieborného metenaminu s kovmi.

POZNÁMKA: Ak chcete zvýšiť počet testov jednej liekovky na dva, strieborný metenamin sa môže rozpustiť v 100 ml deionizovanej vody a skladovať pevne uzavretý. Tento roztok je stabilný pri skladovaní v chladničke (2 – 8 °C) počas 1 mesiaca. Keď je pripravený na použitie, odoberte 50 ml jedného roztoku strieborného metenaminu a pridajte 4 ml roztoku boraxu. Nepoužitú časť roztoku strieborného metenaminu vráťte do chladničky.

Pred použitím zohrejte všetky reagensie na izbovú teplotu.

Bezpečnostné opatrenia

Pomôcky IVD, ktoré sú súčasťou tejto súpravy, sú určené na diagnostické použitie *in vitro* v prostredí klinického laboratória. Tieto IVD sú určené len na profesionálne použitie kvalifikovaným personálom. IVD Sigma-Aldrich môžu obsluhovať laboratórni pracovníci, ktorí sú vyškolení na manipuláciu s ľudskými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné, používajú mikroskopy a iné laboratórne vybavenie a majú farebné vnímanie a zrakovú ostrosť na rozlišovanie farieb a iných objektov pod mikroskopom.

Musia sa dodržiavať bežné bezpečnostné opatrenia uplatňované pri manipulácii s laboratórnymi činidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinciaľnými alebo národnými predpismi.

Kontrolné sklíčka Fungi TISSUE-TROL™ sú živočíšne tkanivá zaliate do parafrónu obsahujúce plesne a mali by sa považovať za potenciálne infekčné.

Postup

Odber vzorky

Žiadna známa testovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú záruku, že vzorky krvi alebo tkaniva neprenesú infekciu. Všetky deriváty krvi alebo vzorky tkaniva by sa preto mali považovať za potenciálne infekčné.

Plesne a oportúnne organizmy ako napr. *P. carinii*

Fixujte v 10 % neutrálnom pufrovanom formaline alebo Bouinovým roztoku, vložte do parafrónu a narežte rezy s hrúbkou 5 mikróvov.¹

Bazálna membrána

Fixujte v 10 % neutrálnom pufrovanom formaline, Bouinovým alebo Zenkerovým roztoku a narežte parafrónové rezy s hrúbkou 1 – 4 mikróny.¹

Poznámky

Farbiace nádoby by sa mali umývať v kvapalnom koncentrácii na čistenie laboratórneho skla Dishbrite, kat. č. S4107, potom roztokom bielidla, dôkladne opláchnuť vo vode z vodovodu a potom v najmenej 6 výmenách deionizovanej vody.

Ak sa používa mikrovlnná rúra, pozrite si pokyny v návode na obsluhu.

Štandardný postup

- Prípravte pracovný roztok strieborného metenaminu podľa opisu v časti „Príprava“ a umiestnite ho do vodného kúpeľa s teplotou 62 °C.
- Deparafinujte rezy tkaniva a rehydratujte ich v deionizovanej vode.
- Rehydratované rezy umiestnite do roztoku kyseliny jodistej na **5 minút** v prípade plesní a oportúnnych organizmov alebo na **11 minút** v prípade bazálnej membrány.
- Odstráňte sklíčka a opláchnite ich v 6 výmenách deionizovanej vody.
- Na preukázanie prítomnosti plesní a oportúnnych organizmov** vložte sklíčka do predhriateho pracovného roztoku strieborného metenaminu. Po 20 minútach preskúmajte mikroskopicky. Plesne a oportúnne organizmy by mali byť tmavohnedé na bledožitom podklade. **Na preukázanie bazálnej membrány** vložte sklíčka do predhriateho pracovného roztoku strieborného metenaminu. Po 30 minútach preskúmajte mikroskopicky. Bazálna membrána by mala byť čierna na tmavom žltom podklade.
- POZNÁMKA:** Počas inkubácie rezov pri 62 °C umiestnite Coplinovu nádobku s deionizovanou vodou do vodného kúpeľa s teplotou 62 °C. Túto vodu použite na opláchnutie pred vyhodnotením v kroku 5. V uvedených intervaloch mikroskopicky preskúmajte rezy za účelom zistenia adekvátneho zafarbenia. Vráťte sklíčka do teplejšieho pracovného roztoku strieborného metenaminu, kým sa nedosiahne požadovaná intenzita.
- Po dosiahnutí dostatočného štruktúrneho zafarbenia odstráňte sklíčka z pracovného roztoku strieborného metenaminu a 6-krát ich opláchnite v deionizovanej vode izbovej teploty.
- Rezy farbite v roztoku chloridu zlatitého počas **30 sekúnd**.
- Opláchnite 6-krát v deionizovanej vode izbovej teploty.
- Rezy umiestnite do roztoku tiosíranu sodného na **2 minúty**.
- Dôkladne umyte pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Kontrastne zafarbite podľa vlastných preferencií roztokom tartrazínu, rýchlou zelenou FCF, svetlozelenou SF žltkastou, Harrisovým roztokom hematoxylínu alebo roztokom eoínu Y.
- Dehydratujte v alkohole, vyčistite v xyléne, fixujte a preskúmajte mikroskopicky.

Mikrovlnný postup

- Sklíčka deparafinujte a hydratujte v deionizovanej vode.
- Sklíčka umiestnite do **40 ml** roztoku kyseliny jodistej v plastovej Coplinovej nádobke. Pred vložím do mikrovlnnej rúry voľne zakryte Coplinovu nádobku viečkom alebo použite viečka Coplinových nádobiek s navŕtanými otvormi. Mikrovlnnú rúru zapnite na **800 wattov na 10 sekúnd**. ***Roztok kyseliny jodistej sa môže použiť opakovane, ak sa použije pri izbovej teplote počas **5 minút** namiesto ohrevu v mikrovlnnej rúre. ***Pri bazálnych membránach je čas inkubácie roztoku kyseliny jodistej **11 minút pri izbovej teplote**.
- Odstráňte sklíčka z roztoku kyseliny jodistej a opláchnite ich v 6 výmenách deionizovanej vody.
- Sklíčka umiestnite do **40 ml** pracovného roztoku strieborného metenaminu v plastovej Coplinovej nádobke.
- V prípade plesňových organizmov** ohrievajte v mikrovlnnej rúre pri výkone **600 W** počas **35 sekúnd**. Roztok jemne premiešajte beralovou pipetou alebo aplikačnou tyčinkou. Nechajte inkubovať **2 – 3 minúty**. Po maximálne **2 až 3 minútach** vložte sklíčka do teplej deionizovanej vody a mikroskopicky skontrolujte vývoj. Ak organizmy nie sú dostatočne vyvinuté, vráťte sklíčka do pracovného roztoku strieborného metenaminu a nechajte ich pôsobiť **30 sekúnd až 1 minútu** alebo kým sa nedosiahne požadovaný tón.

V prípade bazálnej membrány ohrievajte v mikrovlnnej rúre pri výkone **600 wattov** počas **35 sekúnd**. Roztok jemne premiešajte. Nechajte sklíčka inkubovať **5 minút**. Druhýkrát ohrievajte v mikrovlnnej rúre pri výkone **600 wattov** počas **10 sekúnd**. Nechajte sklíčka vyvíjať **2 minút**. Sklíčka skontrolujte mikroskopicky. Ak sklíčka nie sú dostatočne vyvinuté, opakujte posledný krok, kým sa nedosiahne požadovaný tón.

- Sklíčka opláchnite v 6 výmenách deionizovanej vody.
- Zafarbite sklíčka v roztoku chloridu zlatitého počas **30 sekúnd** pri izbovej teplote.
- Sklíčka opláchnite v 6 výmenách deionizovanej vody.
- Sklíčka ponorte do roztoku tiosíranu sodného na **2 minúty** pri izbovej teplote.
- Dôkladne umyte pod tečúcou vodou z vodovodu.
- Kontrastne zafarbite podľa vlastných preferencií rýchlou zelenou FCF, svetlozelenou SF žltkastou, roztokom tartrazínu, Harrisovým roztokom hematoxylínu alebo roztokom eoínu Y.
- Dehydratujte v alkohole, vyčistite v xyléne, fixujte a preskúmajte mikroskopicky.

Vlastnosti výkonu

Cieľová štruktúra	Výsledok farbenia
Plesne	Fialovohnedá až čierna
Oportúnne organizmy	Fialovohnedá až čierna
Bazálna membrána	Čierna
Podklad	Závisí od kontrastného farbiva

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadajte o pomoc.

Vlastnosti analytického výkonu

Výsledky analytického výkonu pre dané testy vykonané na všetkých cieľových štruktúrach potvrdzujú 100 % citlivosť, špecifickosť a opakovateľnosť.

Kat. č.	Opis výrobku	Cieľ	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami
HT1001	Roztok kyseliny jodistej	Plesňové organizmy	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1002	Roztok boraxu	Plesňové organizmy	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1003	Strieborný metenamin	Plesňové organizmy	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1004	Roztok chloridu zlatitého	Plesňové organizmy	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
HT1005	Roztok tiosíranu sodného	Plesňové organizmy	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Výstrahy a nebezpečenstvá

Všetky aktualizované informácie o riziku, nebezpečenstve alebo bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov a na etikete výrobku.

HT100A:



- H271: Môže spôsobiť požiar alebo výbuch; silné oxidačné činidlo.
- H302: Škodlivé po požití.
- H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.
- H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.
- H334: Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti.
- H351: Podozrenie, že spôsobuje rakovinu.
- 360FD: Môže spôsobiť poškodenie plodnosti. Môže spôsobiť poškodenie nenarodeného dieťaťa
- H373: Môže spôsobiť poškodenie orgánov (štítna žľaza) pri dlhšej alebo opakovanej expozícii, pri požití.
- H412: Škodlivé pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.
- P210: Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.
- P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.
- P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.
- P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou.
- P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlné dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.
- P305 + P351 + P338: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Definície symbolov

Symbody podľa vymedzenia v norme EN ISO 15223-1:2021

	Výrobca		Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie		Kód šarže
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii		Vyhĺásenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby		Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

- Sheehan DC, Hrapchak BB: Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby Co. St. Louis (MO), 1980
- Koski JP: Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J Histotechnol 4:115, 1981
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Leong AS-Y, Milios J: Rapid immunoperoxidase staining of lymphocyte antigens using microwave irradiation. J Pathol 148:183, 1986
- Brinn NT: Rapid metallic histologic staining using the microwave oven. J Histotechnol 6:125, 1983
- Churukian CJ, Schenk EA, Clark G: Dilute ammoniacal silver as a substitute for methenamine silver to demonstrate Pneumocystis carinii and fungi. Lab Med 17:87, 1986
- Carson Frieda, Histotechnology: A Self Instructional Text, ASCP Press, Chicago 1990
- Kok and Boon, Microwave Cookbook for Microscopists, Coulomb Press Leydon Leidon 1992

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

História revízií

Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2022
Rev. 6.0	2022
	Prenesené do novej šablóny s aktuálnou značkou. Špecifikované na profesionálne použitie pri určenom použití a bezpečnostných opatreniach. Presunutie vyhlásenia o pomôcke pri diagnostike do určeného použitia. Revidované určené použitie, aby bolo v súlade s usmerneniami IVDR. Aktualizovanie karty bezpečnostných údajov materiálu na karte bezpečnostných údajov. Aktualizované kontaktné informácie. Odstránený pokyn na dodržiavanie CLSI pre odber vzoriek. Odstránená norma EN 980 a zmenená na normu EN ISO 15223-1:2021 pre symboly. Pridané kontaktné informácie pre nežiaduce udalosti. Pridaná časť Upozornenia a nebezpečenstvá.
Rev. 7.0	2025
	Aktualizované pravidlá názvoslovia. Revidované vyhlásenie o určenom použití. Odstránené odkazy vzťahujúce sa na konkrétne organizmy. Doplnené informácie o CH-REP a dovozcovi.

Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M, TISSUE-TROL a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej dcérskych spoločností. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov. Podrobné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii prostredníctvom verejne dostupných zdrojov.

© 2025 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.