

1.00362.0001



Microscopy

Silver plating kit acc. to von Kossa

for the detection of microcalcification

For professional use only



In Vitro Diagnostic Medical Device



Intended purpose

This "Silver plating kit acc. to von Kossa - for detection of microcalcification" is used for human-medical cell diagnosis and serves the purpose of the histological investigation of sample material of human origin. It is a ready-to-use staining kit that when used together with other *in vitro* diagnostic products from our portfolio makes target structures evaluable for diagnostic purposes (by fixing, embedding, staining, counterstaining, mounting) in histological specimen materials, for example histological sections of e.g. the Mamma tissue, the heart, or the lung.

The Silver plating kit acc. to von Kossa is used to visualize calcium deposits in histological tissue specimens.

It contains two ready-to-use reagents that are needed for the silver plating. A counterstaining can be performed with, e.g. Nuclear fast red staining solution, optionally, which is not contained in the kit.

Unstained structures are relatively low in contrast and are extremely difficult to distinguish under the light microscope. The images created using the staining solutions help the authorized and qualified investigator to better define the form and structure in such cases. Further examinations may be necessary to reach a definitive diagnosis.

Principle

Silver ions of the silver nitrate solution react with the carbonate and phosphate ions of the calcium in the stored calcium deposits and displace the calcium ions.

These silver ions are reduced to metallic silver by exposure to strong light, and this silver is evaluated by microscopy.

Sample material

Starting materials are sections of formalin-fixed tissue embedded in paraffin (5 - 6 µm thick paraffin sections).

Reagents

Cat. No. 1.00362.0001
Silver plating kit acc. to von Kossa
for detection of microcalcification

Package components:

The staining kit contains

Reagent 1: Silver nitrate solution 100 ml
Reagent 2: Sodium thiosulfate solution 100 ml

Optional (see "Procedure"):

Cat. No. 1.00121 Nuclear fast red-aluminium sulfate solution 0.1% for microscopy 500 ml

Additionally required auxiliaries for exposure

Also required:

Light source (e.g. desk lamp) fitted with an energy-saving lamp of at least 20 watts.

Sample preparation

The sampling must be performed by qualified personnel.

All samples must be treated using state-of-the-art technology.

All samples must be clearly labeled.

Suitable instruments must be used for taking samples and their preparation. Follow the manufacturer's instructions for application / use.

When using the corresponding auxiliary reagents, the corresponding instructions for use must be observed.

Deparaffinize and rehydrate sections in the conventional manner.

Reagent preparation

The reagents of the Silver plating kit acc. to von Kossa - for detection of microcalcification used for silver plating are ready-to-use, dilution of the solutions is not necessary and merely produces a deterioration of the result and their stability.

Procedure

Staining in the staining cell

Deparaffinize histological slides in the conventional manner and rehydrate in a descending alcohol series.

The slides should be allowed to drip off well after the individual staining steps, as a measure to avoid any unnecessary cross-contamination of solutions.

Do not use metal tweezers and do not allow any other metal objects to come into contact with the slides.

The stated times should be adhered to in order to guarantee an optimal staining result.

Note: To guarantee an optimal exposure, the distance between light source and staining cell should be about 5 cm. The light source should be placed such, that the reaction is illuminated from the top.

Slide with histological specimen	
Distilled water	1 min
Reagent 1 (Silver nitrate solution) under exposure to illuminant	20 min
Running tap water	3 min
Reagent 2 (Sodium thiosulfate solution)	5 min
Running tap water	1 min
Nuclear fast red-aluminium sulfate solution 0.1% (optional)	3 min
Distilled water	1 min
Ethanol 70%	1 min
Ethanol 96%	1 min
Ethanol 100%	1 min
Ethanol 100%	1 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Xylene or Neo-Clear™	5 min
Mount the Neo-Clear™-wet slides with Neo-Mount™ or the xylene-wet slides with e.g. Entellan™ new and cover glass.	

After dehydration (ascending alcohol series) and clearing with xylene or Neo-Clear™, histological samples can be mounted with water-free mounting agents (e.g. Neo-Mount™, Entellan™ new, or DPX new) and a cover glass and can then be stored.

Result

Calcium	brown to black
Nuclei	red
Background	red
Collagen	red

Trouble-shooting

Silver-staining techniques can be difficult and require special care during the procedure.

Weak visualization of calcium deposits

- The use of a 20-Watt energy-saving lamp (with periodic exchange of the bulb), as well as the distance between the lamp and the staining cell (5 cm, illuminated from the top) is essential.
- Further, a tissue thickness of 5 - 6 µm should be used, as mostly sections <5 µm do not contain enough calcium material for the reaction.

Technical notes

The microscope used should meet the requirements of a medical diagnostic laboratory.

When using histoprocessors or automatic staining systems, please follow the instructions for use supplied by the supplier of the system and software.

Analytical performance characteristics

"Silver plating kit acc. to von Kossa" stains and thereby visualizes biological structures, as described in the "Result" chapter of this IFU. The use of the product is only to be carried out by authorized and qualified persons, this includes, among other things, sample and reagent preparation, sample handling, histoprocessing, decisions regarding suitable controls and more.

The analytical performance of the product is confirmed by testing each production batch. The successful participation in international interlaboratory tests on a regular basis provide an additional and unaffiliated confirmation of analytical specificity.

For the following stains, the analytical performance was confirmed in terms of specificity, sensitivity and repeatability of the product with a rate of 100%:

	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity
Histological staining				
Calcium	7/7	7/7	10/10	10/10
Nuclei	7/7	7/7	10/10	10/10
Background	7/7	7/7	10/10	10/10
Collagen	7/7	7/7	10/10	10/10

Analytical performance results

Intra- (performed on the same batch) and inter-assay (performed on different batches) data list the number of correctly stained structures in relation to the number of performed assays.

The results of this Performance Evaluation confirms that the product is suitable for the intended use and performs reliably.

Diagnostics

Diagnoses are to be made only by authorized and qualified personnel. Valid nomenclatures must be used. This method can be supplementarily used in human diagnostics. Further tests must be selected and implemented according to recognized methods. Suitable controls should be conducted with each application in order to avoid an incorrect result.

Storage

Store the Silver plating kit acc. to von Kossa - for detection of microcalcification at +15 °C to +25 °C.

Shelf-life

The Silver plating kit acc. to von Kossa - for detection of microcalcification can be used until the stated expiry date.

After first opening of the bottle, the contents can be used up to the stated expiry date when stored at +15 °C to +25 °C.

The bottles must be kept tightly closed at all times.

The used silver nitrate solution can be used for multiple reactions. However, it should be collected in a separate bottle that is then stored at 15 °C to 25 °C.

Capacity

The package is sufficient for up to 300 applications.

Additional instructions

For professional use only.

In order to avoid errors, the application must be carried out by qualified personnel only. National guidelines for work safety and quality assurance must be followed. Microscopes equipped according to the standard must be used.

Protection against infection

Effective measures must be taken to protect against infection in line with laboratory guidelines.

Instructions for disposal

The package must be disposed of in accordance with the current disposal guidelines.

Used solutions and solutions that are past their shelf-life must be disposed of as special waste in accordance with local guidelines. Information on disposal can be obtained under the Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" at www.microscopy-products.com. Within the EU the currently applicable REGULATION (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006 applies.

Auxiliary reagents

Cat. No.	1.00121	Nuclear fast red-aluminum sulfate solution 0.1% for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00496	Formaldehyde solution 4%, buffered, pH 6.9 (approx. 10% Formalin solution) for histology	350 ml and 700 ml (in bottle with wide neck), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Cat. No.	1.00579	DPX new non-aqueous mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.00974	Ethanol denatured with about 1% methyl ethyl ketone for analysis EMSURE®	1 l, 2.5 l
Cat. No.	1.03999	Formaldehyde solution min. 37% free from acid stabilized with about 10% methanol and calcium carbonate for histology	1 l, 2.5 l, 25 l
Cat. No.	1.04699	Immersion oil for microscopy	100-ml dropping bottle, 100 ml, 500 ml
Cat. No.	1.07960	Entellan™ rapid mounting medium for microscopy	500 ml
Cat. No.	1.07961	Entellan™ new rapid mounting medium for microscopy	100 ml, 500 ml, 1 l
Cat. No.	1.08298	Xylene (isomeric mixture) for histology	4 l
Cat. No.	1.09016	Neo-Mount™ anhydrous mounting medium for microscopy	100-ml dropping bottle, 500 ml
Cat. No.	1.09843	Neo-Clear™ (xylene substitute) for microscopy	5 l
Cat. No.	1.11609	Histosec™ pastilles solidification point 56-58°C embedding agent for histology	1 kg, 10 kg (4x 2.5 kg), 25 kg
Cat. No.	1.15161	Histosec™ pastilles (without DMSO) solidification point 56-58°C embedding agent for histology	10 kg (4x 2.5 kg), 25 kg

Hazard classification

Cat. No. 1.00362.0001

Please observe the hazard classification printed on the label and the information given in the safety data sheet.

The safety data sheet is available on the website and on request.

Main components of the products

Cat. No. 1.00362.0001

Reagent 1	
AgNO ₃	20 g/l
Reagent 2	
Na ₂ O ₃ S ₂	51.4 g/l

General remark

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 authorised representative and to your national authority.

Literature

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



H290: May be corrosive to metals.
 H315: Causes skin irritation.
 H319: Causes serious eye irritation.
 H360D: May damage the unborn child.
 H410: Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

P234: Keep only in original packaging.
 P264: Wash skin thoroughly after handling.
 P273: Avoid release to the environment.
 P280: Wear protective gloves/ eye protection/ face protection.
 P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of water.
 P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

Reagent 1:

H290: May be corrosive to metals.
 H315: Causes skin irritation.
 H319: Causes serious eye irritation.
 H360D: May damage the unborn child.
 H410: Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

Revision History

Version	Modification Comment
2024-Jul-01	Initial version with the introduction of Revision History



Consult instructions
for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult
accompanying documents



Use by
YYYY-MM-DD



Temperature
limitation

Status: 2024-Jul-01

MilliporeSigma is the U.S. and Canada Life Science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved. MilliporeSigma and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly available resources.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803,
 USA, Tel. +1-978-715-4321
 MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario,
 L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.00362.0001



Microscopie

Kit d'argenture selon von Kossa

pour la détection de la microcalcification

Réservé à une utilisation professionnelle



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Objectif prévu

Le « Kit d'argenture selon von Kossa - pour la détection de la microcalcification » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen histologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration prêt à l'emploi, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics *in vitro* de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, inclusion, coloration, contre-coloration, montage) dans des épreuves histologiques, telles que les coupes histologiques de tissu mammaire, foie, poumon, p.ex.

Le kit d'argenture selon von Kossa permet la mise en évidence des dépôts de calcium sur coupes histologiques.

Le présent kit de coloration contient deux réactifs prêts à l'emploi et utilisés pour l'argenture. Il est possible, en option, de contre-colorer, par exemple, à la solution de coloration au rouge solide mais celle-ci n'est pas contenue dans le kit.

Les structures non colorées présentent des contrastes relativement faibles et ne peuvent à peine être différenciées par microscopie optique. Les images créées au moyen des solutions de coloration permettent à un examinateur formé et autorisé de mieux distinguer la forme et la structure. Pour un diagnostic final, il peut être nécessaire d'exécuter des examens supplémentaires.

Principe

Les ions argent de la solution de nitrate d'argent réagissent avec les ions carbonate et phosphate dans les dépôts calcaires stockés et repoussent les ions calcium. Exposés à une lumière forte, ces ions argent sont réduits en argent métallique pouvant être évalué au microscope.

Matériel des échantillons

Le matériel de base utilisé se compose de coupes de tissu fixé à la formaline et inclus en paraffine (couche de paraffine de 5 - 6 µm d'épaisseur).

Réactifs

Art. 1.00362.0001
Kit d'argenture selon von Kossa
pour la détection de la microcalcification

Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1 : Solution de nitrate d'argent 100 ml
Réactif 2 : Solution de thiosulfate de sodium 100 ml

En option (cf. « Mode opératoire », notes de bas) :

Art. 1.00121 Nuclear fast red - Solution à 0,1% de sulfate d'aluminium pour la microscopie 500 ml

Accessoires nécessaires pour l'exposition

Nécessaire en plus :

Source de lumière (p.ex. lampe de bureau) avec ampoule basse consommation de 20 Watt min.

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié. Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art. Tous les échantillons doivent être clairement identifiés. Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Lors de l'utilisation des réactifs auxiliaires adéquats, il y a lieu de respecter les consignes d'utilisation correspondantes.

Déparaffiner et réhydrater les coupes de la manière habituelle.

Préparation du réactif

Les réactifs de Kit d'argenture selon von Kossa - pour la détection de la microcalcification utilisés pour l'argenture sont prêts à l'emploi ; il n'est pas nécessaire de diluer les solutions étant donné que cela réduit le résultat et la stabilité.

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration

Déparaffiner les préparations histologiques de la manière habituelle et les réhydrater par une série d'alcools à concentration décroissante.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Ne pas utiliser de pincettes en métal ni mettre d'autres objets métalliques en contact avec les lames.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Remarque : Pour assurer une exposition optimale, l'écart entre la source lumineuse et la cuve de coloration devrait être d'environ 5 cm et l'éclairage devrait venir du haut.

Porte-objet avec préparation histologique	
Eau distillée	1 minute
Réactif 1 (solution de nitrate d'argent) sous exposition	20 minutes
Eau du robinet courante	3 minutes
Réactif 2 (solution de thiosulfate de sodium)	5 minutes
Eau du robinet courante	1 minute
Nuclear fast red - Solution à 0,1% de sulfate d'aluminium (en option)	3 minutes
Eau distillée	1 minute
Ethanol 70 %	1 minute
Ethanol 96 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Ethanol 100 %	1 minute
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Xylène ou Neo-Clear™	5 minutes
Monter les préparations humides de Neo-Clear™ avec le Neo-Mount™ ou les préparations humides de xylène avec p.ex. l'Entellan™ néo et couvre-objet.	

Après avoir été déshydratées (passage dans des alcools à concentration croissante) et clarifiées dans du xylène ou du Neo-Clear™, les préparations histologiques peuvent être montées avec des produits de montage anhydres (p.ex. Neo-Mount™, Entellan™ néo ou DPX néo) et une lamelle couvre-objet et être conservée.

Résultat

Calcium	brun à noir
Noyaux cellulaires	rouge
Fond	rouge
Collagène	rouge

Diagnostic d'erreurs

Les techniques argentiques peuvent s'avérer difficiles et nécessitent d'être réalisées avec le plus grand soin.

Mise en évidence faible des dépôts calcaires

- L'utilisation d'une lampe à économie d'énergie de 20 Watt (changer régulièrement la lampe) et le respect de l'écart requis entre la source lumineuse et la cuve de coloration (5 cm, éclairée du haut) sont primordiaux.
- Veillez à ce que les coupes de tissu aient une épaisseur de 5 à 6 µm car si les coupes ont une épaisseur de moins de 5 µm, il arrive souvent qu'il n'y ait plus assez de matériel calcaire dans le tissu.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

En cas d'utilisation des processeurs d'histologie ou des automates de coloration, se conformer aux instructions du fabricant de l'appareil et du logiciel.

Caractéristiques de performance analytique

« Kit d'argenture selon von Kossa » colore et permet donc la visualisation de structures biologiques, comme décrit dans le chapitre « Résultat » de ce mode d'emploi. Ce produit ne doit être utilisé que par des personnes agréées et qualifiées, ce qui englobe notamment la préparation des échantillons et des réactifs, la manipulation des échantillons, le traitement histologique (histoprocessing), la prise de décisions en matière de contrôles appropriés et autres.

La performance analytique du produit est confirmée via l'analyse de chaque lot de production. La participation réussie à des tests interlaboratoires internationaux réguliers est une confirmation supplémentaire et indépendante de la spécificité analytique.

Pour les colorants suivants, la performance analytique a été confirmée au niveau des spécificité, sensibilité et répétabilité du produit avec un taux de 100 % :

	Spécificité inter-essai	Spécificité inter-essai	Spécificité intra-essai	Spécificité intra-essai
Coloration histologique				
Calcium	7/7	7/7	10/10	10/10
Noyaux cellulaires	7/7	7/7	10/10	10/10
Fond	7/7	7/7	10/10	10/10
Collagène	7/7	7/7	10/10	10/10

Résultats de la performance analytique

Les données des essais intra-lot (au sein du même lot) et inter-lot (sur différents lots) répertorient le nombre de structures dont la coloration est appropriée en relation avec le nombre d'essais effectués.

Les résultats de cette évaluation de performance confirment que le produit est approprié à l'usage prévu et peut être utilisé de manière fiable.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et qualifiées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

Cette méthode doit être appliquée dans le diagnostic humain à titre complémentaire.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues. Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

Stockage

Stocker le Kit d'argenture selon von Kossa - pour la détection de la microcalcification entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

Le Kit d'argenture selon von Kossa - pour la détection de la microcalcification peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiqué.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

La solution au nitrate d'argent utilisée peut être employée pour plusieurs opérations. À cet effet, elle devrait être récoltée dans une bouteille séparée et conservée à une température entre 15 et 25 °C.

Capacité

L'emballage suffit jusqu'à 300 applications.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié.

Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement CE n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 1.00121	Nuclear fast red - Solution à 0,1 % de sulfate d'aluminium pour la microscopie	500 ml
Art. 1.00496	Formaldéhyde en solution à 4%, tamponnée, pH 6,9 (formaline en solution à env. 10%), pour l'histologie	350 ml et 700 ml (en flacon à col large), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art. 1.00579	DPX néo produit de montage anhydre pour la microscopie	500 ml
Art. 1.00974	Ethanol dénaturé avec env. 1 % d'éthylméthylcétone pour analyse EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.03999	Formaldéhyde en solution au moins 37% non acide stabilisé avec env. 10% de méthanol et calcium carbonate pour l'histologie	1 l, 2,5 l, 25 l
Art. 1.04699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ produit de montage rapide pour la microscopie	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ néo produit de montage rapide pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xylène (mélange isomérique) pour l'histologie	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ agent de montage anhydre pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (remplaçant du xylène) pour la microscopie	5 l
Art. 1.11609	Histosec™ en pastilles P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art. 1.15161	Histosec™ en pastilles (sans DMSO) P.S. 56-58°C agent d'inclusion pour l'histologie	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

Classification des matières dangereuses

Art. 1.00362.0001

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

Composants principaux des produits

Art. 1.00362.0001

Réactif 1

AgNO₃ 20 g/l

Réactif 2

Na₂O₃S₂ 51,4 g/l

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

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



H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H360D: Peut nuire au fœtus.

H410 : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P234 : Conserver uniquement dans l'emballage d'origine.

P264 : Se laver la peau soigneusement après manipulation.

P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 : Porter des gants de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.

P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau.

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.

Réactif 1 :

H290 : Peut être corrosif pour les métaux.

H315 : Provoque une irritation cutanée.

H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.

H360D: Peut nuire au fœtus.

H410 : Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Historique des révisions

Version	Commentaire concernant les modification
2024-Jul-01	Version initiale avec l'introduction de l'historique des révisions



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'au AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2024-Jul-01

MilliporeSigma est le nom de l'activité Life Science américaine et canadienne de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne et/ou ses sociétés affiliées. Tous droits réservés. MilliporeSigma et Sigma-Aldrich sont des marques de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne. Toutes les autres marques citées appartiennent à leurs propriétaires respectifs. Des informations détaillées sur les marques sont disponibles via des ressources accessibles au public.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**

1.00362.0001



Microscopía

Kit de plateado según von Kossa

para la detección de microcalcificaciones

Solamente para uso profesionalProducto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Finalidad prevista

El presente "Kit de plateado según von Kossa - para la detección de microcalcificaciones" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana y se emplea en el examen histológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción listo para el uso que, junto con otros materiales de diagnóstico *in vitro* pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante fijación, inclusión, tinción, contratinción, montaje) en material de examen histológico, como pueden ser cortes histológicos p.ej. del tejido mamario, del hígado o del pulmón.

Con el kit de plateado según von Kossa se representan depósitos de cal en muestras histológicas de tejido.

El presente kit de tinción contiene dos reactivos listos para el uso que son necesarios para el plateado. Opcionalmente será posible contratarse p.ej. con solución de tinción de rojo nuclear sólido. Esta solución no forma parte del kit.

Las estructuras sin teñir son relativamente pobres en contrastes y apenas si pueden diferenciarse bajo el microscopio óptico. Las imágenes generadas con ayuda de las soluciones de tinción permiten a un examinador autorizado y cualificado reconocer mejor la forma y la estructura. Tal vez se requieren exámenes más complejos para un diagnóstico final.

Principio

Los iones plata de la solución de nitrato de plata reaccionan con los iones carbonato y fosfato en los depósitos calcáreos almacenados y desplazan los iones calcio. Debido a una fuerte acción de la luz, estos iones plata son reducidos a plata metálica, la cual es evaluada de forma microscópica.

Material de las muestras

Como material de partida se usan cortes de tejido fijados con formalina, e incluidos en parafina (cortes de parafina con 5 - 6 µm de espesor).

Reactivos

Art. 1.00362.0001
Kit de plateado según von Kossa
para la detección de microcalcificaciones

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1: Solución de nitrato de plata 100 ml
Reactivo 2: Solución de tiosulfato sódico 100 ml

Opcionalmente (ver "Técnica"):

Art. 1.00121 Rojo nuclear en solución de aluminio sulfato al 0,1% 500 ml
para microscopía

Medio auxiliar necesario adicionalmente para exposición

Necesario además:

Fuente de luz (p.ej. lámpara de oficina) con una bombilla de bajo consumo de 20 Vatios como mínimo.

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología. Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Al usar los correspondientes reactivos auxiliares deberán tenerse en cuenta las respectivas instrucciones de empleo.

Desparafinar de forma típica los cortes y rehidratar.

Preparación del reactivo

Los reactivos del Kit de plateado según von Kossa - para la detección de microcalcificaciones utilizados para los procesos de plateado están listos para el uso, la dilución de las soluciones no es necesaria y empeora el resultado así como la estabilidad.

Técnica

Tinción en la cubeta de tinción

Desparafinar de forma habitual los preparados histológicos y rehidratar en serie descendente de alcohol.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

No utilizar pinzas de metal, y tampoco permitir el contacto de otros objetos metálicos con los preparados.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Nota: Para garantizar una exposición ideal, la distancia entre la fuente de luz y la cubeta de tinción debería ser de aprox. 5 cm, y la iluminación debería realizarse desde arriba.

Portaobjetos con preparado histológico	
Agua destilada	1 minuto
Reactivo 1 (solución de nitrato de plata) bajo exposición	20 minutos
Agua corriente del grifo	3 minutos
Reactivo 2 (solución de tiosulfato sódico)	5 minutos
Agua corriente del grifo	1 minuto
Rojo nuclear en solución de aluminio sulfato al 0,1% (opcionalmente)	3 minutos
Agua destilada	1 minuto
Etanol 70 %	1 minuto
Etanol 96 %	1 minuto
Etanol 100 %	1 minuto
Etanol 100 %	1 minuto
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Xileno o Neo-Clear™	5 minutos
Montar con Neo-Mount™ los preparados humedecidos con Neo-Clear™, o los preparados humedecidos con xileno con p.ej. Entellan™ Nuevo y cubre-objetos.	

Los preparados histológicos pueden ser montados y almacenados con medios de montaje anhidros (p.ej. Neo-Mount™, Entellan™ Nuevo o DPX nuevo) y cubreobjetos después de la deshidratación (series de alcohol ascendentes) y la clarificación con xileno o Neo-Clear™.

Resultado

Calcio	pardo a negro
Núcleos celulares	rojo
Fondo	rojo
Colágeno	rojo

Localización de errores

Las técnicas de plateado pueden ser difíciles y precisan un especial esmero durante la realización.

Representación débil de los depósitos calcáreos

- El uso de una lámpara de ahorro energético de 20 vatios (renovar con regularidad la bombilla) así como el cumplimiento de lo indicado en lo que se refiere a la distancia de la fuente luminosa respecto a la cubeta de tinción (5 cm, iluminación desde arriba) son aspectos esenciales.
- Debería tenerse en cuenta que el espesor del corte de tejido sea de 5 - 6 µm, porque en los cortes de <5 µm con frecuencia ya no queda suficiente material calcáreo en el tejido.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

Si se utilizan histoprocadores o aparatos automáticos de tinción, deberán tenerse en cuenta las instrucciones de operación del fabricante, tanto del aparato como del software.

Características de rendimiento analítico

"Kit de plateado según von Kossa" tiñe y, por lo tanto, visualiza estructuras biológicas, como se describe en el capítulo "Resultado" de estas instrucciones de uso. Solo deben utilizar el producto personas autorizadas y cualificadas. Esta utilización incluye, entre otras actividades, la preparación de muestras y reactivos, la manipulación de muestras, el procesamiento histológico, las decisiones relativas a los controles adecuados, etc.

El rendimiento analítico del producto se confirma analizando cada lote de producción. La participación satisfactoria en análisis interlaboratorios internacionales periódicos proporciona una confirmación adicional e independiente de la especificidad analítica.

En el caso de las siguientes tinciones, se confirmó el rendimiento analítico en términos de especificidad, sensibilidad y repetibilidad del producto, con una tasa del 100 %:

	Especificidad interensayos	Especificidad interensayos	Especificidad intraensayos	Especificidad intraensayos
Tinción histológica				
Calcio	7/7	7/7	10/10	10/10
Núcleos celulares	7/7	7/7	10/10	10/10
Fondo	7/7	7/7	10/10	10/10
Colágeno	7/7	7/7	10/10	10/10

Resultados de rendimiento analítico

Los datos intraensayos (realizados en el mismo lote) e interensayos (realizados en diferentes lotes) enumeran las estructuras correctamente teñidas en relación con el número de ensayos realizados.

Los resultados de esta evaluación de rendimiento confirman la aptitud del producto para el uso previsto, así como su fiabilidad de funcionamiento.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes.

Este método debe aplicarse complementariamente en el diagnóstico humano. Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el Kit de plateado según von Kossa - para la detección de microcalcificaciones de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El Kit de plateado según von Kossa - para la detección de microcalcificaciones puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

La solución usada de nitrato de plata podrá ser aprovechada para varias pasadas de prueba. Para este fin, la solución debería ser recogida en una botella aparte y guardada a una temperatura de 15 °C a 25 °C.

Capacidad

El envase es suficiente para hasta 300 aplicaciones.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado.

Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) N° 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) N° 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 1.00121	Rojo nuclear en solución de aluminio sulfato al 0,1% para microscopía	500 ml
Art. 1.00496	Formaldehído en solución 4%, tamponado, pH 6,9 (aprox. 10% de formalina en solución) para histología	350 ml y 700 ml (en frasco de cuello ancho), 5 l, 10 l, 10 l Titripac®
Art. 1.00579	DPX nuevo medio de montaje anhidro para microscopía	500 ml
Art. 1.00974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiletilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 l
Art. 1.03999	Formaldehído en solución mín. 37% exento de ácido estabilizado con aprox. 10% de metanol y carbonato cálcico para histología	1 l, 2,5 l, 25 l
Art. 1.04699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 1.07960	Entellan™ medio de montaje rápido para microscopía	500 ml
Art. 1.07961	Entellan™ Nuevo medio de montaje rápido para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l
Art. 1.08298	Xileno (mezcla de isómeros) para histología	4 l
Art. 1.09016	Neo-Mount™ medio de montaje anhidro para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 500 ml
Art. 1.09843	Neo-Clear™ (sustituto de xileno) para microscopía	5 l
Art. 1.11609	Histosec™ pastillas punto de solidificación 56-58°C medio de inclusión para histología	1 kg, 10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg
Art. 1.15161	Histosec™ pastillas (sin DMSO) punto de solidificación 56-58°C, medio de inclusión para histología	10 kg (4x 2,5 kg), 25 kg

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.00362.0001

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Componentes principales de los productos

Art. 1.00362.0001

Reactivo 1

AgNO₃ 20 g/l

Reactivo 2

Na₂O₃S₂ 51,4 g/l

Aviso general

Si se produce un incidente grave durante el uso o a causa del mismo, sírvase informar al fabricante y/o a su apoderado y a su autoridad nacional.

Literatura

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



H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H315: Provoca irritación cutánea.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H360D: Puede dañar al feto.

H410: Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P234: Conservar únicamente en el embalaje original.

P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación.

P273: Evitar su liberación al medio ambiente.

P280: Llevar guantes/equipo de protección para los ojos/ la cara.

P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.

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.

Reactivo 1:

H290: Puede ser corrosivo para los metales.

H315: Provoca irritación cutánea.

H319: Provoca irritación ocular grave.

H360D: Puede dañar al feto.

H410: Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Historial de revisiones

Versión	Comentario de modificación
2024-Jul-01	Versión inicial con la introducción del Historial de revisiones



Observe las instrucciones de uso



Fabricante



Número de catálogo



Código del lote



Atención, observar la documentación pertinente



Utilizable hasta AAAA-MM-DD



Delimitación de la temperatura

Status: 2024-Jul-01

MilliporeSigma es la unidad Life Science de los Estados Unidos y Canadá de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania.

© 2024 Merck KGaA, Darmstadt, Alemania y/o sus filiales. Todos los derechos reservados. MilliporeSigma y Sigma-Aldrich son marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.



EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive, Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
MilliporeSigma Canada Ltd., 2149 Winston Park Dr, Oakville, Ontario, L6H 6J8, Canada, Phone: +1 800-565-1400
www.sigmaldrich.com

**MILLIPORE
SIGMA**