

BioGenex8810 Kato Road, Suite 100E & 200E,
Fremont, CA94538Tel : +1(800)421-4149,
Fax: +1(510)824-1490,
support@biogenex.com

ECIREP

EmergoEurope
Prinsessegracht
20 2514 AP
The Hague,,
The Netherlands

COUNTER STAINS

Doc. No. 932-HK100E-4 Rev. No. 1
Release Date: 10-Aug-2020

ENGLISH

Reagents Provided: One of the following

Catalog No.	Counter Stain
HK100-5K, HK100-9K	Hematoxylin

Intended Use

BioGenex Counter stains are intended for in vitro diagnostic use to provide color contrast in formalin-fixed tissue sections in an immunohistochemistry (IHC) or in situ hybridization (ISH) assay.

Summary and Explanation

Counter stains provide complementary information regarding the overall morphology or histology of the cell or tissue to that provided by the primary stain. Thoughtful selection of a combination of the primary stain and counter stain can result in significant enhancement of staining signal. BioGenex provides several effective counter stain options that have a contrasting and subtle color, which do not interfere with the primary stain.

Principles of the Procedure

The counter stains take advantage of the chemical nature of the cellular components and react with them. The stains may be specific for either the acidic or the basic components of cells.

Reagents Required but Not Supplied

All reagents required for counter staining are provided. See antibody and detection kit datasheets for complete set of reagents required for immunohistochemistry (IHC) or in situ hybridization (ISH) procedures.

Storage and Handling

Store all reagents at 2-8°C. Do not use after expiration dates as indicated on the reagent labels.

Specimen Preparation

Paraffin embedded and formalin fixed tissue sections 4-6 micron thick are suitable for use with enzyme pretreatment.

Precautions

HK100-XX:

Xi;R36/38 = Irritating to eyes and skin.

S26 S37 S24/25 S60 = In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice. Wear suitable gloves. Avoid contact with skin and eyes. This material and its container must be disposed of as hazardous waste.

Staining Protocol

The following table provides the recommended treatments with counter stain. Refer to the antibody and detection kit datasheets for complete staining protocols. User should validate any other conditions. For automated use follow instructions in operator's manual.

Counter stain	BioGenex Recommendations

Hematoxylin	Stain slides for 1 to 5 minutes, rinse with distilled water. Dehydrate sections in a series of graded alcohols and clear in xylene or xylene substitute, then mount. Compatible with AEC, DAB and Fast Red chromogens.
-------------	--

Quality Control

Refer to the appropriate detection system package inserts for guidance on general quality control procedures.

Trouble shooting

- Run appropriate positive and negative controls to ensure the optimal signal.
- Refer to the troubleshooting section in the package inserts of BioGenex Super Sensitive Detection Systems (or other equivalent detection systems) for remedial actions on detection system related issues, or contact BioGenex Technical Service Department at 1 800-421-4149 or customer.service@biogenex.com to report unusual staining.

Expected Results

Counter stain	Expected Results
Hematoxylin	Nucleus stains bluish purple.
Methyl Green	Nucleus stains light green
Nuclear Fast Red	Nucleus stains red, cytoplasm stains pink.

Limitations of the procedure

Methyl green leaches in aqueous mounting medium so use only permanent mounting medium with methyl green counterstain. Improper dewaxing will lead to negative or weak signal.

Performance Characteristics

BioGenex has conducted studies to evaluate the performance of all its counter stains using several BioGenex antibodies and detection systems. The counter stains have been found to show color contrasts with respect to the primary stain thereby enhancing the staining pattern. BioGenex counter stains have shown reproducible and consistent results when used within a single run, between runs, between lots and wherever applicable between manual and automated runs. The products have been determined to be stable for the periods specified on the labels either by standard real time or accelerated testing methods. BioGenex ensures product quality through 100% quality control for all products released and through surveillance programs.

ITALIANO, ITALIAN

Uso previsto

I Counter stains (controcoloranti) BioGenex sono destinati all'uso diagnostico in vitro per fornire contrasto di colore in sezioni di tessuto fissate in formalina in un dosaggio di immunostochimica (IHC) o di ibridizzazione in situ (ISH),

Riassunto e spiegazione

I Counter stains (controcoloranti) forniscono informazioni supplementari riguardanti la morfologia globale o l'istologia cellulare o tissutale in aggiunta a quelle fornite dalla colorazione primaria. Un'accurata selezione di una combinazione del colorante primario e del controcolorante può risultare in un significativo miglioramento del segnale di colorazione. BioGenex fornisce vari tipi di soluzioni di controcolorante aventi un colore contrastante e tenue che non interferiscono con il colorante primario.

Principi della procedura

I Counterstains (controcoloranti) si avvantaggiano della natura chimica delle componenti cellulari e si combinano con queste ultime. I coloranti possono essere specifici sia per le componenti cellulari acide che per quelle basiche.

Reagenti forniti

N. di catalogo	Counter stain (Controcolorante)
HK100-5K, HK100-9K	Hematoxylin
HK141-10X, HK141-7K	Methyl Green
HK142-7K	Nuclear Fast Red
HK142-7K	HEMATOX

Reagenti necessari, ma non forniti

Sono forniti tutti i reagenti richiesti per la controcolorazione. Consultare le schede tecniche degli anticorpi e dei kit di rivelazione per conoscere la serie completa dei reagenti necessari per le procedure di immunostochimica (IHC) o di ibridizzazione in situ (ISH).

Conservazione e manipolazione

Conservare tutti i reagenti a 2-8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza impressa sull'etichetta dei diversi reagenti.

Allestimento dei campioni

Sono idonee all'uso con pretrattamento enzimatico sezioni di tessuto dello spessore di 4-6 micron fissate in formalina e incluse in paraffina.

Precauzioni

HK100-XX:

Xi;R36/38 = Irritante per gli occhi e la pelle.

S26 S37 S24/25 S60 = In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico. Usare guanti adatti. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. Questo materiale e il suo contenitore devono essere smaltiti come rifiuti pericolosi.

Protocollo di colorazione

La tabella seguente indica i trattamenti raccomandati da effettuare con il Counter stain (controcolore). Consultare le schede tecniche degli anticorpi e dei kit di rivelazione per conoscere nei dettagli i protocolli di colorazione. L'utilizzatore è tenuto a convalidare qualsiasi altra condizione applicata. Per l'uso automatico, seguire le istruzioni previste nel manuale dell'operatore.

Controcolore	Raccomandazioni BioGenex
Hematoxylin	Colorare i vetrini per 1-5 minuti e risciacquare con acqua distillata. Disidratare le sezioni in una serie di alcool graduati e diafanizzare in sostituto di xilene o xilene e quindi montare. Compatibile con cromogeni AEC, DAB e Fast Red.
Methyl Green	Colorare i vetrini per 5-10 minuti e risciacquare con acqua distillata. Compatibile con cromogeni BCIP/NBT.
Nuclear Fast Red	Colorare i vetrini per 1-5 minuti e risciacquare con acqua distillata. Disidratare le sezioni in una serie di alcool graduati e diafanizzare in sostituto di xilene o xilene e quindi montare. Compatibile con cromogeni DAB e BCIP/NBT.

Controllo qualità

Consultare i foglietti illustrativi del sistema di rivelazione utilizzato per istruzioni sulle procedure generali di controllo qualità.

Risoluzione dei problemi

- Eseguire opportuni controlli positivi e negativi per assicurare un segnale ottimale.
- Consultare la sezione "Risoluzione dei problemi" dei foglietti illustrativi dei BioGenex Super Sensitive Detection Systems (o di sistemi di rivelazione equivalenti) per azioni correttive su questioni relative ai sistemi di rivelazione, oppure rivolgersi all'assistenza tecnica BioGenex, al numero 800 421 4149, per riferire casi di colorazione inconsueta.

Risultati attesi

Controcolorazione	Risultati attesi
Hematoxylin	Il nucleo assume un colore porpora azzurrognolo.
Methyl Green	Il nucleo assume un colore verde chiaro.
Nuclear Fast Red	Il nucleo assume un colore rosso e il citoplasma un colore rosa.

Limiti della procedura

Il Methyl green si dissolve in un mezzo di montaggio acquoso, pertanto utilizzare solo un mezzo di montaggio permanente con methyl green Counterstain (controcolore verde metile.)

Una scorretta paraffinatura porterà a un segnale debole o negativo.

Caratteristiche funzionali

BioGenex ha condotto diversi studi per valutare l'efficacia di tutti i suoi Counter stains (controcoloranti) utilizzando diversi sistemi di rivelazione e anticorpi BioGenex. Si è notato che i Counter stains (controcoloranti) indicano i contrasti di colore in riferimento al colore primario e quindi migliorano il pattern di colorazione. I Counter stains (controcoloranti) BioGenex hanno dimostrato risultati riproducibili e coerenti quando sono stati utilizzati nell'ambito di un singolo ciclo, tra più cicli e tra più lotti, nonché quando sono risultati applicabili tra cicli automatici e cicli manuali. Si è potuto determinare che tali prodotti rimangono stabili per i periodi indicati sulle relative etichette sia secondo il tempo reale standard, sia in base a metodi di test accelerati. BioGenex assicura la qualità del prodotto grazie ad un controllo qualità al 100% su tutti i prodotti forniti e grazie a programmi di sorveglianza.

DEUTSCH, GERMAN

Verwendungszweck

BioGenex Counter stains (Gegenfärbemittel) dienen zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik, zur Bereitstellung von Farbkontrasten bei Formalin-fixierten Gewebeschnitten in der Immunohistochemie (IHC) oder In-situ-Hybridisierung (ISH).

Zusammenfassung und Erklärung

Counter stains (Gegenfärbemittel) liefern zum Hauptfärbeprozess komplementäre Informationen bezüglich der Gesamtmorphologie oder Histologie der Zelle oder des Gewebes. Eine wohlüberlegte Auswahl der Kombination des Hauptfärbeprozesses und der Counter stain (Gegenfärbung) kann zu einer signifikanten Verbesserung des Färbesignals führen. BioGenex liefert eine Reihe effizienter Gegenfärbemittel mit kontrastierenden und zarten Farbtönen, welche mit der Hauptfärbung nicht interferieren.

Prinzipien des Verfahrens

Die Gegenfärbemittel nutzen die chemische Beschaffenheit der Zellkomponenten und reagieren mit diesen. Die Färbemittel können jeweils für die sauren oder die basischen Zellkomponenten ausgelegt sein.

Mitgelieferte Reagenzien

Katalognr.	Gegenfärbemittel
HK100-5K, HK100-9K	Hematoxylin
HK141-10X, HK141-7K	Methyl Green
HK142-7K	Nuclear Fast Red
HK884-20K	HEMATOX

Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang)

Alle zur Gegenfärbung benötigten Reagenzien werden mitgeliefert. Siehe Datenblätter zu Antikörpern und Nachweiskits für die vollständige Liste der Reagenzien, die für Verfahren der Immunohistochemie (IHC) oder In-situ-Hybridisierung (ISH) benötigt werden.

Lagerung und Handhabung

Alle Reagenzien bei 2-8 °C lagern. Produkt nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwenden.

Probenvorbereitung

Paraffin-eingebettete und Formalin-fixierte Gewebeschnitte mit einer Dicke von 4-6 Mikron sind zur Verwendung mit der Enzymvorbereitung geeignet.

Vorsichtsmaßnahmen

HK100-XX:

Xi;R36/38 = Reizt die Augen und die Haut.

S26 S37 S24/25 S60 = Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Geeignete Schutzhandschuhe tragen. Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden. Dieses Produkt und sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen.

Färbeprotokoll

Die folgende Tabelle führt die empfohlenen Behandlungen mit Counter stains (Gegenfärbemitteln) auf. Für vollständige Färbeprotokolle siehe Datenblätter der Antikörper und Nachweiskits. Der Anwender sollte alle abweichenden Bedingungen zuerst validieren. Zur automatisierten Anwendung siehe Anleitungen im Bedienungshandbuch.

Gegenfärbemittel	BioGenex Empfehlungen
Hematoxylin	Objektträger 1–5 Minuten färben, dann mit destilliertem Wasser spülen.Schnitte in einer Reihe von Alkoholbädern dehydrieren und in Xylen oder Xylen-Substitut klären, dann fixieren.Kompatibel mit AEC, DAB und Fast Red-Chromogenen.
Methyl Green	Objektträger 5–10 Minuten färben, dann mit destilliertem Wasser spülen. Kompatibel mit BCIP/NBT-Chromogenen.
Nuclear Fast Red	Objektträger 1–5 Minuten färben, dann mit destilliertem Wasser spülen.Schnitte in einer Reihe von Alkoholbädern dehydrieren und in Xylen oder Xylen-Substitut klären, dann fixieren. Kompatibel mit DAB und BCIP/NBT-Chromogenen.

Qualitätskontrolle

Siehe entsprechende Packungsbeilagen der Nachweissysteme zu Informationen über Richtlinien für allgemeine Verfahren zur Qualitätskontrolle.

Fehlerbehebung

- Geeignete positive und negative Kontrollen mitlaufen lassen, um das optimale Signal sicherzustellen.
- Im Abschnitt Fehlerbehebung in den Packungsbeilagen der BioGenex Super Sensitive Detection Systems (oder anderer gleichwertiger Nachweissysteme) mögliche Abhilfemaßnahmen bei Problemen mit dem Nachweissystem nachlesen oder den Technischen Kundendienst von BioGenex unter +1 (925) 275-0550 verständigen, um ungewöhnliche Anfärbungen zu melden.

Erwartete Ergebnisse

Gegenfärbemittel	Erwartete Ergebnisse
Hematoxylin	Zellkern färbt sich bläulich-purpur.
Methyl Green	Zellkern färbt sich hellgrün.
Nuclear Fast Red	Zellkern färbt sich rot, Zytoplasma färbt sich rosa.

Einschränkungen des Verfahrens

Methyl Green wird in wässrigem Fixiermedium ausgelaugt, dementsprechend ist ein permanentes Fixiermedium mit Methyl Green-Counter stain (Gegenfärbemittel) zu verwenden.

Inkorrektes Entwachsen führt zu einem negativen oder schwachen Signal.

Leistungsmerkmale

BioGenex hat Untersuchungen zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit aller Counter stains (Gegenfärbemittel) unter Verwendung verschiedener BioGenex Antikörper und Nachweissysteme durchgeführt. Es wurde festgestellt, dass die Counter stains (Gegenfärbemittel) Farbkontraste in Verbindung mit der Hauptfärbung aufweisen und somit die Qualität des Färbemusters erhöhen. BioGenex Counter stains (Gegenfärbemittel) haben reproduzierbare und konsistente Ergebnisse bei Verwendung innerhalb eines einzigen Durchlaufs, bzw. bei verschiedenen Durchläufen, mit verschiedenen Chargen und, falls zutreffend, auch bei manuellen und automatisierten Durchläufen gezeigt. Die Produkte wurden für die auf den Etiketten angegebenen Zeiträume als stabil bestimmt, entweder mit Standard-Echtzeit- oder mit beschleunigten Testmethoden. BioGenex sichert die Produktqualität durch 100%ige Qualitätskontrolle für alle freigegebenen Produkte und durch Überwachungsprogramme.

ESPANOL, SPANISH

Uso previsto

Las Counterstains (contratinciones) de BioGenex son para uso diagnóstico in vitro para obtener contraste de color en los cortes de tejido fijados con formol en la inmunohistoquímica (IHC) o en la hibridación in situ (ISH).

Resumen y explicación

Las Counterstains (contratinciones) proporcionan información complementaria a la obtenida con la tinción primaria relativa a la morfología o la histología global de la célula o del tejido.Una selección cuidada de una combinación de la tinción primaria y de la Counterstain (contratinción) puede dar como resultado una potenciación significativa de la señal de tinción.BioGenex dispone de diferentes contratinciones efectivas, cuyo color ofrece un contraste y es tenue, y que no interfieren con la tinción primaria.

Principiosdelprocedimiento

Las Counterstains (contratinciones) se benefician de la naturaleza química de los componentes celulares y reaccionan con ellos.Las tinciones pueden ser específicas para los componentes celulares ácidos o básicos.

Reactivossuministrados

Nº de referencia	Contratinciones
HK100-5K, HK100-9K	Hematoxylin
HK141-10X, HK141-7K	Methyl Green
HK142-7K	Nuclear Fast Red
HK884-20K	HEMATOX

Reactivosnecesariospero no suministrados

Se suministran todos los reactivos necesarios para la contratinción.Consultar en las hojas de datos del kit de anticuerpo y detección el juego completo de reactivos necesarios para la inmunohistoquímica (IHC) o la hibridación in situ (ISH).

Almacenamiento y manipulación

Almacenar todos los reactivos a 2-8 °C. No usar después de las fechas de caducidad que se indican en las etiquetas de los reactivos.

Preparación de la muestra

Cortes de tejido de 4-6 micras de grosor, embebidos en parafina y fijados con formol son adecuados para el pretratamiento enzimático.

Precauciones

HK100-XX:

X Xi;R36/38 = Irrita los ojos y la piel.

S26 S37 S24/25 S60 = En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.Úsense guantes adecuados.Evítese el contacto con los ojos y la piel.Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

Protocolo de tinción

En la siguiente tabla se muestran los tratamientos recomendados con la Counterstain (contratinción).Consultar los protocolos completos de tinción en las hojas de datos del kit del anticuerpo y de la detección. El usuariodebevalidarcualquierotracondición que se utilice. Consultaren el manual delusuario las instrucciones para el usoautomatizado.

Contratinciones	Recomendaciones de BioGenex
Hematoxylin	Tiña los portaobjetos entre 1 y 5 minutos y aclárelos con agua destilada.Deshidrate los cortes en una serie de alcoholes de diferente graduación y aclárelos en xileno o en un sustitutivo y, a continuación, móntelos.Compatible con los cromógenos AEC, DAB y Fast Red.
Methyl Green	Tiña los portaobjetos entre 5 y 10 minutos y aclárelos con agua destilada. Compatible con los cromógenos BCIP/NBT.
Nuclear Fast Red	Tiña los portaobjetos entre 1 y 5 minutos y aclárelos con aguadestilada. Deshidrate los cortes en una serie de alcoholes de diferente graduación y aclárelos en xileno o en un sustitutivo y, a continuación, móntelos. Compatible con los cromógenos DAB y BCIP/NBT.

Control de calidad

Consultar las normas sobre los procedimientosgenerales de control de calidad en las hojas de datosapropiadosdelsistema de detección.

Resolución de problemas

- Analice los controles positivo y negativo apropiados para garantizar la señal óptima.
- Consultar las acciones que se deben emprender ante aspectos relacionados con el sistema de detección en la sección Resolución de problemas de las hojas de datos de los BioGenex SuperSensitiveDetectionSystems™ (Sistemas de Detección SuperSensitive de BioGenex) (u otros sistemas de detección equivalentes) o ponerse en contacto con el Departamento de Servicio Técnico de BioGenex, al teléfono (925) 275-0550, para comunicar una tinción inusual.

Resultadosesperados

Contratinciones	Resultadosesperados
Hematoxylin	El núcleo se tiñe de color púrpura azulado.
Methyl Green	El núcleo se tiñe de colorverdeclaro.
Nuclear Fast Red	El núcleo se tiñe de colorrojo y el citoplasma se tiñe de color rosa.

Limitacionesdelprocedimiento

Methylgreen lixivia en los medios de preparación acuosos, de manera que sólo se pueden utilizar medios permanentes con la Counterstain (contratinción) methylgreen.






Una eliminación inadecuada de la cera causa una señal negativa o débil.

Características de rendimiento

BioGenex ha realizado estudios para evaluar el rendimiento de todas sus Counterstains (contratinciones) usando varios anticuerpos y sistemas de detección de BioGenex.Se ha encontrado que las Counterstains (contratinciones) muestran contrastes de color con respecto a la tinción primaria y, por lo tanto, potencian el patrón de tinción.Las Counterstains (contratinciones) de BioGenex han mostrado resultados reproducibles y uniformes cuando se usan en un solo procedimiento, entre procedimientos, entre lotes y siempre que proceda entre los procedimientos manuales y automatizados.Se ha determinado que los productos son estables durante los períodos que se especifican en las etiquetas, ya sea por métodos de tiempo real estándar o en condiciones aceleradas.BioGenex garantiza la calidad del producto mediante un control de calidad al 100% de todos los productos comercializados y mediante programas de vigilancia.

Bibliography

- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767-770.
- Omata M, Liew CT, Ashcavai M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immuno histochemistry. Am J ClinPathol 1980 May;73(5):626-632.

	Representative in the European Community MandatarionellaComunitàEuropea Bevollmächtigter in der EuropäischenGemeinschaft Representantautorizadoen la ComunidadEuropea
	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro In Vitro Diagnostikum Productsanitario para diagnóstico in vitro
	Cons ult Instructions for use Consultarele istruzioni per l'uso Gebrauchsanweisungbeachten Consulte las instruccionesde uso
	Temperature Limitation Limiti di temperatura ZulässigerTemperaturbereich Limite de temperatura
	Manufacturer Fabricante Hersteller Fabricante