

ANILINE BLUE REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Za primjenu kod bojenja u Masson trichrome kompletu

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: ABR-OT-100 (100 mL)

ABR-OT-500 (500mL)

Uvod

Anilin Blue reagens sastavni je dio Masson trichrome kompleta koji se koristi se za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana i vezivnog tkiva, gameta, jezgara, neurofibrila, neuroglija, kolagena, keratina, intracelularnih fibrila te negativne slike Golgijeva aparata. Radi se o metodi bojenja mišićnih i kolagenskih vlakana u tkivima pri čemu se boja Aniline Blue veže za kolagen dajući mu karakteristično plavo obojenje. Koristi se za vizualizaciju povećanog nakupljanja kolagena koje se veže uz zamjenu funkcionalnog tkiva s ožiljkom (dijagnosticiranje skleroze jetre), ali i za razlikovanje glatkih mišićnih vlakana i kolagena.

Opis proizvoda

- **ANILINE BLUE REAGENS** - Reagens za bojenje kolagenskih vlakana.

Primjer primjene Aniline Blue reagensa kao komponente Masson trichrome kompleta

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za prosvjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue
- Predmetna stakla za primjenu u histologiji, patologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX New, BioMount C
- VitroGnost pokrovnna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za umeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova 37, A, C, FF, Tropical Grade, Cedrovog ulja
- Ostali reagensi Masson trichrome kompleta: Bouinova otopina (BOU-OT-100), Hematoksilin, Weigert A (HEMA-OT-100), Feri reagens, Weigert B (FR-OT-100), Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagens (BSAF-OT-100), P.T.A.-P.M.A. reagens (PPR-OT-100, Octena kiselina, 1%-tna otopina (OK1-OT-100)

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak kvalitetno fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).
- Prosvjetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutima ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue). Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

Postupak bojenja uzorka kompletom sa sedam reagensa od 100 mL

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Uroniti u Bouinovu otopinu	60 minuta na 56°C ili preko noći na sobnoj temperaturi
6.	Ohladiti preparat na sobnu temperaturu	10 minuta
7.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 sekundi
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	10 sekundi
9.	Pripremiti radnu otopinu Weigert hematoksilina: pomiješati jednaki volumen Hematoksilina, Weigert A i Feri reagensa, Weigert B	
	Napomena: radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata	
10.	Uroniti u radnu otopinu Weigert hematoksilina i pustiti da djeluje	15-20 minuta
11.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
12.	Uroniti u Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagens	20 minuta
13.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
14.	Uroniti u PTA-PMA reagens	10 minuta
15.	Izlijevanje reagensa s preparata bez ispiranja	
16.	Uroniti u Aniline Blue reagens	5-7 minuta
17.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
18.	Uroniti u 1%-tnu otopinu octene kiseline	1-2 urona
19.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
20.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
21.	Bistenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni

BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgre – crna boja

Mišićna vlakna, keratin, citoplazme – žarko crvena boja

Kolagen, mukoza – plava boja

Eritrociti – žuto-narančasta boja

Napomena

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojanje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzorka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti uputu proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Aniline Blue reagens čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od 15 °C do 25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Lillie, R.D. (1945): Studies on selective staining of collagen with acid aniline dyes, J. Technical Methods, 25:1
3. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U. (1989), Tecniche in anatomia patologica, Edi Ermes, Milano.
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

ABR-OT-X, V4, 19.09.2022., KB/IŠP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Oprez lomljivo		

 BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com



