

# AZAN TRICHROME KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od pet reagensa za bojenje vezivnog tkiva

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: AZT-100T (za 100 testiranja) AZT-K-250 (5x250 mL)

#### Uvod

Azan trichrome komplet je Heidenhain modifikacija Mallory trichrome kompleta za bojenje vezivnog tkiva. Koristi se za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana, glijna stanica, glomerularnih stroma, kromatina i eritrocita na istom preparatu. Komplet sadrži dvije kisele boje: Azocarmine G i kontrastnu boju Aniline Blue. Azocarmine G se koristi na početku bojenja, a Aniline Blue na kraju, nakon što se preparat tretira otopinom fosfomolibdenske kiseline. Kako bi se postigli dobri rezultati bojenja, nužno je najprije preparat preobojiti Azocarminom G, a potom ga postepeno diferencirati alkoholnom otopinom anilina, kako bi omogućili kontrastno obojenje određenih struktura (poput kolagena) na preparatu.

#### Opis proizvoda

- AZAN TRICHROME KOMPLET**- Komplet od pet reagensa za bojenje vezivnog tkiva.

Komplet sadrži:	100 testiranja (AZT-100T)	5 x 250 mL (AZT-K-250)
Azocarmine, otopina	100 mL (AZ-OT-100)	250 mL (AZ-OT-250)
Aniline, alkoholna otopina	30 mL (ANA-OT-30)	250 mL (ANA-OT-250)
Kiseli alkohol, Azan	30 mL (KAA-OT-30)	250 mL (KAA-OT-250)
Fosfomolibdenska kiselina, 5%-tna otopina	100 mL (FMK5-OT-100)	250 mL (FMK5-OT-250)
Azan reagens	100 mL (AZR-OT-100)	250 mL (AZR-OT-250)

#### 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 njegova supstituta na bazi alifatskih ugljikovodika poput BioClear New sredstva
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- 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 DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam ili MountQuick Tube
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Cedrovog ulja, Imerzijskih ulja tipova A i B

#### 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 supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

#### Postupak bojenja histoloških preparata

##### NAPOMENA

- Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

##### a) kompletom za 100 testiranja (AZT-100T)

Reagense volumena 100 mL uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalnu ambalažu. Zagrijanu Azocarmine otopinu najprije ohladiti na sobnu temperaturu pa vratiti u originalnu ambalažu. Dobro zatvoriti.

1.	Deparafinacija u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 10 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.	Zagrijati Azocarmine otopinu na +56°C i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 min na +56 °C
6.	Ohladiti preparate na sobnu temperaturu	5 minuta
7.	Ispiranje u tekućoj vodovodnoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata (nekoliko sekundi)
8.	Nakapati Aniline, alkoholnu otopinu (≥ 5 kapi) i diferencirati	1 minuta
	Napomena: preporuča se diferencijaciju provesti uz mikroskopsku kontrolu preparata. Nakon jedne minute isprati preparat u destiliranoj (demi) vodi i pregledati preparat mikroskopski. Ukoliko je potrebno, radnju ponoviti.	
9.	Nakapati Kiseli alkohol, Azan (≥ 5 kapi)	2-5 sekunda
10.	Ukloniti reagens s preparata bez ispiranja	
11.	Tretiranje Fosfomolibdenskom kiselinom, 5%-tnom otopinom: uliti otopinu u posudu za bojenje i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 minuta tretirati preparate želuca i tankog crijeva (sekcije gastrointestinalnog sustava), a 60 minuta preparate bubrega
12.	Ukloniti otopinu s preparata bez ispiranja	
13.	Bojenje Azan reagensom: uliti reagens u posudu za bojenje i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	5-10 minuta bojiti preparate želuca i tankog crijeva (sekcije gastrointestinalnog sustava), a 20-25 minuta preparate bubrega
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	2 izmjene po 5 urona
15.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
16.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
18.	Bistenje u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 5 minute

Odmah nakon bistrenja, 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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### b) kompletom s pet reagensa od 250 mL (AZT-K-250)

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 10 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.	Zagrijati Azocarmine otopinu na +56°C i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 min na +56 °C
6.	Ohladiti preparate na sobnu temperaturu	5 minuta
7.	Ispiranje u tekućoj vodovodnoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata (nekoliko sekundi)
8.	Uroniti u Aniline, alkoholnu otopinu i diferencirati	1 minuta
	Napomena: preporuča se diferencijaciju provesti uz mikroskopsku kontrolu preparata. Nakon jedne minute isprati preparat u destiliranoj (demi) vodi i pregledati preparat mikroskopski. Ukoliko je potrebno, radnju ponoviti.	
9.	Uroniti u Kiseli alkohol, Azan	2 do 5 urona
10.	Bez ispiranja preparata prijeći na sljedeći korak	
11.	Uroniti u Fosfomolibdensku kiselinu, 5%-tnu otopinu. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 minuta tretirati preparate želuca i tankog crijeva (sekcije gastrointestinalnog sustava), a 60 minuta preparate bubrega
12.	Bez ispiranja preparata prijeći na sljedeći korak	
13.	Uroniti u Azan reagens. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	5-10 minuta bojiti preparate želuca i tankog crijeva (sekcije gastrointestinalnog sustava), a 20-25 minuta preparate bubrega
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	2 izmjene po 5 urona
15.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
16.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
18.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 5 minute

Odmah nakon bistrenja, 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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### Rezultat

Jezgre, eritrociti, acidofilne granule hipofize – crvena boja

Neurofibrili (neuroglija) – tonovi crvene boje

Mišićna vlakna – ružičasto do crveno-ružičasta boja

Kolagen, retikulini, bazofilne stanične membrane, bubrežne glomerularne strome, bazalne membrane – plavo do tamno plava boja

Elastična vlakna – neobojena

#### Napomena

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

#### Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka 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

Azan trichrome komplet 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

- Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U. (1989), Tecniche in anatomia patologica, Edi Ermes, Milano.
- Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J., Sobin, L. (1968), Laboratory methods in histotechnology, McGraw Hill, Washington D.C.
- Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.

AZT-X, V4, 08.05.2023., KB/ISP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 REF Kataloški broj	 CE Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 LOT 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

