

# AZOCARMINE G boja u prahu, C.I. 50085

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

CE

## Rosinduline

### Za bojanje po AZAN trikromnoj metodi

#### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: AZC-P-5 (5 g)

#### Uvod

Histologija, citologija i druge srodne znanstvene discipline proučavaju mikroskopsku anatomiju tkiva i stanica. Kako bi se postigla dobra vizualizacija tkivnih i staničnih struktura, potrebno ih je pravilno obojiti. Azocarmine G je anionska boja, vrlo slična Azocarminu B. Prvenstveno se koristi u AZAN metodi bojenja (po Heidenhainu ili u raznim modifikacijama). Također se koristi u histološkim polikromnim metodama bojenja, a u histokemiji se koristi za prigušivanje pozadinske fluorescencije u fluorescentnom bojenju Schiff reagensom.

#### Opis proizvoda

- **AZOCARMINE G**– Boja u prahu za izradu otopine boje za primjenu u histologiji i histokemiji

#### Primjer primjene Azocarmine G boje u prahu u Heidenhain AZAN metodi bojenja

#### Ostali preparati i reagensi koji se koriste u metodi bojenja:

- koncentrirana octena kiselina
- alkoholna otopina anilina, kiseli alkohol, otopina fosfomolibdenske kiseline, Azan reagens (reagensi z BioGnostovog AZAN kompleta, kat. br. AZT-100T, AZT-K-250)

#### Priprema Azocarmine otopine za bojenje

- Dodati 2 g Azocarmine G boje u prahu u 200 mL destilirane (demi) vode, zagrijati do vrenja.
- Ostaviti da se ohladi do sobne temperature.
- Filtrirati topinu. Dodati 2 mL koncentrirane octene kiseline.
- Ne filtrirati ponovno.

Otopina je stabilna jednu godinu na sobnoj temperaturi (promiješati i zagrijati na 56°C prije upotrebe) tj, dva tjedna ukoliko se stalno drži na 56 °C.

#### 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

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 pripremljenu ambalažu. Dobro zatvoriti.

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.	Zagrijati Azocarmine otopinu na +56°C i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 min na +56 °C
6.	Hladiti preparate pri sobnoj temperaturi	5 minuta
7.	Ispiranje u tekućoj vodovodnoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata (nekoliko sekundi)
8.	Nakapati Aniline, alkoholnu otopinu ( $\geq 5$ 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 ( $\geq 5$ kapi)	1 minuta
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 (i sličnih tkiva), a 60 minuta preparate bubrega
12.	Ukloniti reagens s preparata bez ispiranja	
13.	Bojenje Azan reagensom: uliti reagens u posudu za bojenje i uroniti preparate. Poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja	30 minuta bojiti preparate želuca i tankog crijeva (i sličnih tkiva), a 60 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 2 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 supstitut 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

Navedena formulacija samo je jedan od načina pripreme otopine boje. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, otopina boje može se pripremiti i prema drugim protokolima.

### Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

### 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 dostupnim na zahtjev.

### Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Azocarmine G boju u prahu potrebno je čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Držati na suhom, ne zamrzavati i izbjegavati izlaganje direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok valjanosti je otisnut na etiketi proizvoda.

### Literatura

- Conn, J. (1977): *Biological Stains*, 9<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co.
- Kiernan, J.A. (2008): *Histological and Histochemical Methods. Theory and Practice*. 4<sup>th</sup> edition, Bloxham, UK: Scion

AZC-P-5, V2, 13.01.2017., AK/VR

 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

