

ALCIAN BLUE OTOPINA pH 2,5

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Otopina za bojenje kiselih mukopolisaharida

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: AB2-OT-100 (100 mL)

AB2-OT-500 (500 mL)

AB2-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Alcian Blue 8GX boja koristi se za dokazivanje glikozaminoglikana kod mucina, za bojanje amiloida, cisteina i za polikromatsko bojanje mastocita alcian blue-safranin metodom. Također se koristi i za determinaciju bakterijskih vrsta i otkrivanje bakterijskih kapsula. Alcian Blue otopina pH 2,5 sastavni je dio Alcian Blue – P.A.S. kompleta, kao i Alcian Blue pH 2,5 kompleta. Alcian Blue pH 2,5 komplet omogućuje dobro obojenje i vizualizaciju kiselih mucina, a da se pritom ne oboje sulfatni mucini. Alcian Blue - P.A.S. komplet omogućuje diferencijaciju neutralnih i kiselih mucina, glikogena i glikoproteina.

Opis proizvoda

- ALCIAN BLUE-OTOPINA pH 2,5 – otopina Alcian Blue 8GX boje optimalne koncentracije i podešenog pH vrijednosti 2,5

Primjer bojenja Alcian Blue otopine pH 2,5 kao komponente Alcian Blue-P.A.S. kompleta:

Alcian Blue-P.A.S. komplet sadrži:	100 testiranja (AB-100T)	7 x 100 mL (AB-K-100)	7 x 500 mL (AB-K-500)
Alcian Blue otopina pH 2,5	30 mL (AB2-OT-30)	100 mL (AB2-OT-100)	500 mL (AB2-OT-500)
Natrijev tetraborat, otopina	30 mL (NTB-OT-30)	100 mL (NTB-OT-100)	500 mL (NTB-OT-500)
Perjodna kiselina, 0,8%-tna otopina	30 mL (PK08-OT-30)	100 mL (PK08-OT-100)	500 mL (PK08-OT-500)
BioSchiff reagens	30 mL (BS-OT-30)	100 mL (BS-OT-100)	500 mL (BS-OT-500)
Natrijev metabisulfit, otopina	30 mL (NM-OT-30)	100 mL (NM-OT-100)	500 mL (NM-OT-500)
HCL reagens, P.A.S.	30 mL (HCLP-OT-30)	100 mL (HCLP-OT-100)	500 mL (HCLP-OT-500)
Hematoksilin ML	30 mL (HEMML-OT-30)	100 mL (HEMML-OT-100)	500 mL (HEMML-OT-500)

Priprema dodatnih otopina potrebnih za bojenje

- Sulfitna otopina
Promiješati 10 mL Natrij metabisulfit, otopine s 10 mL HCL reagensa, PA.S. Otopini potom dodati još 200 mL vodovodne vode, promiješati.
Napomena: sulfitnu otopinu napraviti netom prije korištenja.

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Uzorak tkiva 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).
- Prosvijetliti 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.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka kompletom za 100 testiranja (AB-100T)

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.	Bojenje Alcian Blue otopinom pH 2,5 (nakapati ≥ 5 kapi)	30 minuta
6.	Nagnuti preparat te ukloniti Alcian Blue otopinu pH 2,5. Bez ispiranja, prekriti preparat otopinom natrijevog tetraborata (nakapati ≥ 5 kapi)	10 minuta
7.	Ispiranje pod hladnom tekućom vodom	5 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	1-2 minute
9.	Tretirati Perjodnom kiselinom, 0,8%-tnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	5-10 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodom	3 minute
11.	Oprati preparat destiliranom (demi) vodom	
12.	Tretirati BioSchiff reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	10-15 minuta
13.	Tretirati sulfitnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
14.	Ispirati pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
15.	Bojenje Hematoksilinom ML (nakapati ≥ kapi)	1-3 minute
16.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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

Mucini – plavo tirkizna boja
PAS pozitivne supstance – purpurna (magenta) boja
Jezgre – plava boja
Epitelni mucin i hrskavica – ljubičasta/tamno plava boja

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja 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

Alcian Blue otopinu pH 2,5 čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25°C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktno 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. Davey, F.R. et Nelson, D.A.(1977): Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed., W. J. Williams, E. Buetler, A. J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630-1632.
3. Hotchkiss, R.D.(1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations, *Arch. Biochem.* 16, str. 131.
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory an Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

AB2-X, V2, 10.01.2017., 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	 Za jednokratnu upotrebu	 Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Oprez lomljivo	 Vrijedi do	

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

