

# ALCIAN BLUE pH 1.0 KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od tri reagensa za bojenje snažno sulfatiranih mukopolisaharida UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: AB10-100T (za 100 testiranja) AB10-K-100 (3 x 100 mL)

### 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. Alcian Blue 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 pH 1.0 komplet omogućuje dobro obojenje i vizualizaciju snažno sulfatiranih kiselih mukopolisaharida, a da se pritom ne oboje karboksilirani kiselci mucini niti neutralni mucini. Stanične jezgre se kontrastno oboje crvenom bojom.

### Opis proizvoda

- ALCIAN BLUE pH 1.0 KOMPLET – Komplet od tri reagensa za bojenje snažno sulfatiranih mukopolisaharida.

Komplet sadrži:	100 testiranja (AB10-100T)	3 x 100 mL (AB10-K-100)
Alcian Blue otopina pH 1,0	30 mL (AB10-OT-30)	100 mL (AB10-OT-100)
HCl reagens, Alcian Blue	30 mL (HCLAB-OT-30)	100 mL (HCLAB-OT-100)
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	30 mL (KR-OT-30)	100 mL (KR-OT-100)

### 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, Kanada Balzam
- VitroGnost pokrovnna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Cedrovog ulja, Imerzijskih ulja tipova A i 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.

### NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

### Postupak bojenja uzorka

#### a) kompletom za 100 testiranja (AB10-100T)

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.	Bojenje Alcian Blue otopinom pH 1,0 (nakapati $\geq 5$ kapi)	30 minuta
6.	Nagnuti preparat te ukloniti Alcian Blue otopinu pH 1,0 bez ispiranja, eventualno pokupiti višak boje filter papirom.	
7.	Po želji nakapati na preparate HCl reagens, Alcian Blue ( $\geq 5$ kapi) na kratko vrijeme kako bi se uklonio višak Alcian Blue otopine. Ne ispirati u vodi zbog moguće promjene pH i nespecifičnog obojenja tkiva.	
8.	Nakapati Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens ( $\geq 5$ kapi)	5 minuta
9.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
10.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
13.	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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### b) kompletom s tri reagensa od 100 mL (AB10-K-100)

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.	Uroniti u Alcian Blue otopinu pH 1,0	30 minuta
6.	Izvaditi preparat iz Alcian Blue otopine pH 1,0 bez ispiranja, eventualno pokupiti višak boje filter papirom.	
7.	Po želji uroniti preparate u HCl reagens, Alcian Blue na kratko vrijeme kako bi se uklonio višak Alcian Blue otopine. Ne ispirati u vodi zbog moguće promjene pH i nespecifičnog obojenja tkiva.	
8.	Uroniti u Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	5 minuta
9.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
10.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
	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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### Rezultat

Jezgre - crvena boja

Snážno sulfatirani kiseli mukopolisaharidi - plava 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 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

Alcian Blue pH 1.0 komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

#### Literatura

1. Conn, J. (1977): Biological Stains, 9th ed., Baltimore: Williams and Wilkins Co.
2. Mowry, R.W. (1956): Alcian blue techniques for the histochemical study of acidic carbohydrates, Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 4, 407.
3. Scott, J.E., Dorling, J. (1965): Differential staining of acid glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) by Alcian blue in salt solutions, Histochemie, 5, 221-233.

AB10-X, V1, 01.12.2016., IŠP/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

