

ALCIAN BLUE pH 2.5 KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Komplet od tri reagensa za bojenje mucina prema Dorlingu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: AB25-100T (za 100 testiranja) AB25-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 2.5 komplet omogućuje dobro obojenje i vizualizaciju kiselih mucina, a da se pritom ne oboje sulfatni mucini. Otopine za ispiranje imaju jednaku pH vrijednost, čime se specifičnost reakcije još pojačava. Stanične jezgre se kontrastno oboje crvenom bojom.

Opis proizvoda

- **ALCIAN BLUE pH 2.5 KOMPLET** – Komplet od tri reagensa za bojenje kiselih mucina prema Dorling metodi.

Komplet sadrži:	100 testiranja (AB25-100T)	3 x 100 mL (AB25-K-100)
Alcian Blue otopina pH 2,5	30 mL (AB2-OT-30)	100 mL (AB2-OT-100)
Natrijev tetraborat, otopina	30 mL (NTB-OT-30)	100 mL (NTB-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 pokrovna 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).
- Prosvijetliti preparat intermedijem; ksilenum (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 (AB25-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-nom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-nom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje Alcian Blue otopinom pH 2,5 (nakapati ≥ 5 kapi)	45 minuta
6.	Nagnuti preparat te ukloniti Alcian Blue otopinu pH 2,5. Bez ispiranja, prekriti preparat Natrijevim tetraboratom, otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	10 minuta
7.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	5 minuta
8.	Nakapati Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens (≥ 5 kapi)	5 minuta
9.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
10.	Dehidracija u 70%-nom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
11.	Dehidracija u 95%-nom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
12.	Dehidracija u 100%-nom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
13.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minuta

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 stakлом.

b) kompletom s tri reagensa od 100 mL (AB25-K-100)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne boćice. 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 Alcian Blue otopinu pH 2,5	45 minuta
6.	Bez ispiranja, uroniti u Natrijev tetraborat, otopinu	10 minuta
7.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	5 minuta
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
13.	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 ksilén, 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

Mucini - plava boja

Napomena

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzorka. 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. Uzorce 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 mјere 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 2.5 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

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

AB25-X, V5, 10.01.2017., AK/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju
	Temperaturni raspon čuvanja
	Čuvati od topline i sunčevog svjetla
	Čuvati na suhom
	Pročitati priloženu uputu
	Vrijedi do
	Oprez lomljivo
	REF Kataloški broj
	LOT Broj serije
	Europska sukladnost
	Proizvođač

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

