

AZAN TRICHROME KOMPLET



IVD In vitro diagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Komplet od pet reagensa za bojenje vezivnog tkiva prema Malloryju

UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC30708STARVF		
EMDN kód	W01030708		
REF Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj	
AZT-100T	Za 100 testiranja	03858890002942	
AZT-K-250	5x250 mL	03858890005202	



Namjena proizvoda i načelo testiranja

Azan trichrome komplet je Heidenhain modifikacija Mallory trichrome kompleta za bojenje vezivnog tkiva. Koristi se za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana, glija stanica, glomerularnih stroma, kromatina i eritrocita na istom preparatu. Komplet sadrži dvije kisele boje: Azocarmine i kontrastnu boju Aniline Blue. U prvom koraku Azocarmine, kao anionska boja, selektivno boji jezgre i citoplazmu ovisno o njihovom afinitetu prema kiselim bojama. Nakon diferencijacije Kiselim alkoholom i alkoholnom otopinom anilina, u sljedećem koraku primjenjuje se otopina fosfomolibdenske kiseline koja uklanja vezanu osnovnu boju (Azocarmine) iz citoplazme i kolagena, ali je ostavlja čvrsto vezanu u jezgrama, čime se postiže jasni nuklearni kontrast. U zadnjem koraku preparati se boje Azan reagensom koji kolagen i druge sastojke vezivnog tkiva boji plavom bojom, uz crveno obojene jezgre te crveno-ružičasto obojene citoplazmu i mišić.

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)	Temperatura skladištenja
Azocarmine, otopina	100 mL (AZ-OT-100)	250 mL (AZ-OT-250)	15-25°C
Aniline, alkoholna otopina	30 mL (ANA-OT-30)	250 mL (ANA-OT-250)	15-25°C
Kiseli alkohol, Azan	30 mL (KAA-OT-30)	250 mL (KAA-OT-250)	15-25°C
Fosfomolibdenska kiselina, 5%-tna otopina	100 mL (FMK5-OT-100)	250 mL (FMK5-OT-250)	15-25°C
Azan reagens	100 mL (AZR-OT-100)	250 mL (AZR-OT-250)	15-25°C

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodici:

- 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 supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- Predmetna i pokrovna stakla VitroGnost za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%) i procesirati
- Uklopiti tkivo u parafinski blok (BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue)
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat.

Postupak bojenja histoloških preparata

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 ksileni (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/demineraliziranoj 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/demineraliziranoj vodi i pregledati preparat mikroskopski. Ukoliko je potrebno, radnju ponoviti.	
9.	Nakapati Kiseli alkohol, Azan (≥ 5 kapi)	2-5 sekundi
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/demineraliziranoj 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 ksileni (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 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. Zagrijanu Azocarmine otopinu najprije ohladiti na sobnu temperaturu pa vratiti u originalnu ambalažu. 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/demineraliziranoj 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/demineraliziranoj 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/demineraliziranoj 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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgre, eritrociti, acidofilne granule hipofize – crvena boja

Neurofibrili (neuroglia) – tonovi crvene boje

Mišićna vlakna – ružičasto do crveno-ružičasta boja

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

Elastična vlakna – nebojena

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka bojenja opisanog u ovoj Uputi za rukovanje mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

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.

Ukoliko tijekom upotrebe proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

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. Reagensi korišteni 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, uputi za rukovanje te u sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. 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.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:	
	H225 Lako zapaljiva tekućina i para. P210 Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti. P233 Čuvati u dobro zatvorenom spremniku. P280 Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

AZT-IFU_HRV5, 02.02.2026. IŠP

	Proizvođač		Broj serije		Pročitati priloženu uputu		Sadrži dovoljno za <n> testova
	Datum proizvodnje		Kataloški broj		Oprez		Europska sukladnost
	Rok uporabe		Temperaturno ograničenje		Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Jedinstvena identifikacija proizvoda

 **BioGnost d.o.o.**
Medugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.biognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
5	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	02.02.2026.