

# AZOCARMINE, OTOPINA

**IVD** In vitro dijagnostički medicinski proizvod

## Za primjenu u Azan trichrome kompletu

### UPUTA ZA RUKOVANJE

**REF** Kataloški broj: AZ-OT-100T (100 mL)

AZ-OT-250 (250 mL)

#### Uvod

Azocarmine, otopina sastavni je dio Azan trichrome kompleta za bojenje vezivnog tkiva. Komplet se koristi i za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana, glija stanica, glomerularnih stroma, kromatina i eritrocita na istom preparatu. Azan trichrome komplet sadrži dvije kisele boje: Azocarmine G i kontrastnu boju Aniline Blue. Azocarmine G se koristi na početku bojenja, a Aniline Blue na kraju, nakon što se preparat tretira otopinom fosfomolibdenske kiseline. Kako bi se postigli dobri rezultati bojenja, nužno je najprije preparat preobojiti Azocarminom G, a potom ga postepeno diferencirati alkoholnom otopinom anilina, kako bi omogućili kontrastno obojenje određenih struktura (poput kolagena) na preparatu.

#### Opis proizvoda

- **AZOCARMINE, OTOPINA** – Vodena otopina Azocarmine G boje u prahu.

#### Primjer primjene Azocarmine, otopine kao dio Azan trichrome kompleta:

#### Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebjeni 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 uglikovodika 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, BioMount Aqua ili Kanade Balzama
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Cedrovog ulja, Imerzijskih ulja tipova A i B
- Ostale komponenete Azan trichrome kompleta: Aniline, alkoholna otopina, Kiseli alkohol, Azan, Fosfomolibdenska kiselina, 5%-tna otopina, Azan reagens

#### NAPOMENA

- Reagens prilikom bojenja mora u potpunosti prekriti preparat.

#### 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).
- Proslijediti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltirati 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 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. 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.	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 (demi) vodi i pregledati preparat mikroskopski. Ukoliko je potrebno, radnju ponoviti.	
9.	Uroniti u Kiseli alkohol, Azan	1 minuta
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 (i sličnih tkiva), 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	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 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**

Ježgre, eritrociti, acidofilne granule hipofize – crvena boja

Neurofibrili (neuroglija) – tonovi crvene boje

Mišićna vlakna – ružičasto do crveno-ružičasta boja

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

Elastična vlakna – neobojena

## **Napomena**

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojenje uzorka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojenje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

## **Priprema uzorka i dijagnostika**

Za uzimanje i pripremu uzorka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti uputu proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka 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 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 koji je dostupan na zahtjev.

## **Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti**

Azocarmine, otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

## **Literatura**

1. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U. (1989), Tecniche in anatomia patologica, Edi Ermes, Milano.
2. Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J., Sobin, L. (1968), Laboratory methods in histotechnology, McGraw Hill, Washington D.C.
3. Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.

AZ-X, V1, 18.11.2016., IŠP/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju
	Temperaturni raspon čuvanja °C
	Čuvati od topline i sunčevog svjetla

BIOGNOST d.o.o.  
Medugorska 59  
10040 Zagreb  
CROATIA  
[www.biognost.com](http://www.biognost.com)

