

BRILLIANT CRESYL BLUE OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Otopina za bojenje retikulocita u krvi UPUTA ZA RUKOVANJE

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

BCB-OT-500 (500 mL)

BCB-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Kako je broj retikulocita u perifernoj krvi mjera eritropoetske aktivnosti, brojanje retikulocita predstavlja jednu od osnovnih i najčešće korištenih metoda u postupcima dijagnostičke hematologije. Retikuloci su juvenilne crvene krvne stanice koje sadrže ostatke bazofilnih ribonukleoproteina. Ti ostaci predstavljaju materijal s kojim se veže Brilliant cresyl blue otopina stvarajući granulirani ili vlaknasti plavo-crni precipitat. Mladi odnosno nezreli retikuloci imaju najveću koncentraciju istaloženog materijala dok se kod starijih retikulocita mikroskopski može uočiti tek manji broj granula ili kratkih vlakana. U ovoj se metodi kao ispitni materijal koriste svježi, nefiksirani juvenilni eritrociti.

Opis proizvoda

- **BRILLIANT CRESYL BLUE, OTOPINA** – otopina za hematološka i citološka ispitivanja uzoraka krvi

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Predmetna stakla za primjenu u hematologiji poput VitroGnost STANDARD GRADE ili predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala

Uzorak za ispitivanje

- Nekoagulirana venska krv (s EDTA) ili kapilarna krv

Postupak bojenja

Bojenje u epruveti

- Pomiješati jednak volumen krvi i otopine za bojenje u staklenoj epruveti (npr. 20 µL krvi + 20 µL Brilliant Cresyl Blue otopine)
- Ostaviti da odstoji 30 minuta. Ponovno promiješati.
- Napraviti krvni razmaz na predmetnom stakalcu.
- Nakon sušenja na zraku, razmaz se mikroskopski pregleda bez prethodne fiksacije ili kontrastnog bojenja.

Bojenje na predmetnom staklu

- Pripremiti tanki razmaz Brilliant Cresyl Blue, otopine na predmetnom stakalcu pomoću staklenog štapića. Na zraku osušena stakalca mogu se čuvati do 2 tjedna.
- Umiješati malu kapljicu krvi preko razmaza boje.
- Kako ne bi došlo do sušenja preparata, preparat odmah staviti u inkubacijsku posudu na 5-10 minuta.
- Osušiti preparat na zraku. Preparat se mikroskopski pregleda bez prethodne fiksacije ili kontrastnog bojenja.

Rezultat

Na retikulocitima se vidi tamnoplava mreža ili tamnoplave točke.

Brojanje retikulocita

Broj retikulocita izražava se kao odnos prema 100 prebrojanih eritrocita, tj. u postotku.

Normalne vrijednosti retikulocita (%):

Odrasli: 0,5-1,5

Novorođenčad: 2-6

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani u kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Periodi navedeni u Uputi okvirno odgovaraju dugogodišnjem načinu rada s optimalnim rezultatima. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima. Mikroskopski preparat mora biti pravilno razmazan i obojen. Većina zrelih retikulocita sadrži samo nekoliko granula ili vlakana što otežava brojanje. Stanice koje sadrže Pappenheimerova tjelešca, koja se nalaze u perifernoj krvi nakon operativnog zahvata uklanjanja dijela ili cijele slezene, mogu otežati razlikovanje od zrelih retikulocita. Međutim, Pappenheimerova granule su obično prisutne u obliku pojedinačne točke te se boje tamnije nego precipitat u retikulocitima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje uzorka i njegovu pripremu moraju se koristiti prikladni instrumenti. Svi uzorci moraju se obrađivati najsuvremenijom tehnologijom te biti jasno obilježeni. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja mora izvoditi stručna osoba. Dijagnoze mogu postavljati 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 zdravљa u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu s obavijestima i znakovima upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

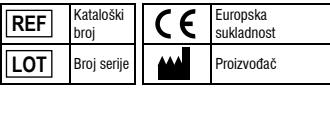
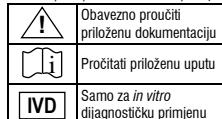
Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Brilliant Cresyl Blue, otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na +15°C do +25°C. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktno sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Carson, F. L. (2007), Histotechnology, 2. izd. Singapore
2. Cook, D. J. (2006): Cellular pathology, 2. izd. Banbury: Scion Publishing Ltd.
3. Kiernan, J. A. (2008) Histological and histochemical methods, 4th ed. Bloxham: Scion Publishing Ltd.

BCB-X, V6, 22.05.2019., AK/IŠP



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

