

OCTENA KISELINA, 1%-TNA OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

1%-tna otopina octene kiseline

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: OK1-OT-100 (100 mL) OK1-OT-500 (500 mL)

Uvod

Masson trichrome i Masson-Goldner trichrome kompleti koriste se za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana i vezivnog tkiva, gameta, jezgara, neurofibrila, neuroglija, kolagena, keratina, intracelularnih fibrila te negativne slike Golgijeva aparata. Masson trichrome metoda bojenja koristi Aniline Blue boju koja se veže za kolagen dajući mu karakteristično plavo obojenje, dok Masson-Goldner trichrome koristi Fast Green F.C.F. boju dajući kolagenu zeleno obojenje. Kompleti se također koriste za bolju identifikaciju povećanog nakupljanja kolagena koje se veže uz zamjenu funkcionalnog tkiva s ožiljkom (dijagnosticiranje skleroze jetre), ali i za razlikovanje glatkih mišićnih vlakana i kolagena. Octena kiselina, 1%-tna otopina dio je navedenih kompleta s funkcijom diferenciranja, odnosno uklanjanja suvišne boje s preparata te tako doprinosi boljoj kvaliteti i izgledu mikroskopske slike preparata.

Opis proizvoda

- **OCTENA KISELINA, 1%-TNA OTOPINA**- Vodena otopina octene kiseline.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja:

- 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 Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- 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 DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- VitroGnost pokrovnna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Primjer bojenja histoloških uzoraka Masson trichrome kompletom (MST-100T):

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Kako ne bi došlo do isparavanja reagensa s preparata, preporučamo korištenje komorice/posudice za inkubaciju.

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 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitoGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

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.	Bojenje Bouinovom otopinom: uliti Bouinovu otopinu u inkubacijsku posudicu (tip Coplin ili Hellendhal) te uroniti preparat i poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja reagensa. Ostaviti na sobnoj temperaturi preko noći ili jedan sat na +56° C.	60 minuta na 56° C ili preko noći na sobnoj temperaturi
6.	Ohladiti preparat na sobnoj temperaturi	10 minuta
7.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 sekundi
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	10 sekundi
9.	Nakapati 5 kapi Hematoksilina, Weigert A i 5 kapi Feri reagensa, Weigert B. Lagano promiješati i pustiti da djeluje.	5 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
11.	Nakapati Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagens (≤5 kapi)	2 minute
12.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
13.	Nakapati PTA-PMA reagens (≤5 kapi)	10 minuta
14.	Izlijevanje reagensa s preparata bez ispiranja	
15.	Nakapati Aniline Blue reagens (≤5 kapi)	5 minuta
16.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
17.	Nakapati Octenom kiselinom, 1%-tnom otopinom (≤5 kapi)	3 minute
18.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona

19.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
20.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
21.	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 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 – crna boja

Mišićna vlakna, keratin, citoplazme – žarko crvena boja

Kolagen, mukoza – plava boja

Eritrociti – žuta do narančasto-crvena 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 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 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 koji je dostupan na zahtjev.




Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Octenu kiselinu, 1%-tnu 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

- 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.

OK1-X, V4, 27.04.2023., LO/IŠP

	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

