

CONGO RED PUCHTLER KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od četiri reagensa za bojenje amiloidnih nakupina

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: CRP-100T (za 100 testiranja)

CRP-K-100 (za do 300 testiranja)

Uvod

Congo Red Puchtler komplet koristi se za bojenje amiloida (amorfni nakupina) u histološkim preparatima. Unatoč varijabilnom proteinskom sastavu, amiloidne nakupine povezuje formiranje beta-ploča fibrila. Fibrile na sebe vežu Congo Red boju formirajući pritom pravilan uzorak molekula boje. Pravilnost strukture boje na polariziranom svjetlu pokazuje svojstvo dvostruke refrakcije svjetlosti dajući zeleno obojenje. Visoki pH i ionska jakost otopina prema Puchtleru postižu veću specifičnost boje prema amiloidu.

Opis proizvoda

- CONGO RED PUCHTLER KOMPLET**- Komplet od četiri reagensa za bojenje amiloidnih nakupina.

Komplet sadrži:	Za 100 testiranja (CRP-100T)	Za do 300 testiranja (CRP-K-100)
Congo Red, Puchtler reagens	CRPR-OT-100 (100 mL)	CRPR-OT-200 (200 mL)
Hematoksilin G1	HEMG1-OT-30 (30 mL)	HEMG1-OT-100 (100 mL)
Natrijev hidroksid, otopina	NH-OT-30 (30 mL)	NH-OT-30 (30 mL)
Histanol 100	H100-OT-100 (4 x 100mL)	H100-OT-200 (4 x 200 mL)

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 supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE 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 New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX New, BioMount C, Kanada Balzam
- VitroGnost pokrovnna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm

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 8-10 µm tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo (preparate montirati na VitroGnost adhezivno predmetno staklo)

Priprema Congo Red Puchtler radne otopine

U staklenoj posudici za bojenje (tip Coplin) pomiješati 8 mL Congo Red, Puchtler reagensa s 32 mL 100%-tnog etilnog alkohola (BioGnostov Histanol 100). Dodati 12 kapi Natrijevog hidroksida, otopine.

Za pripremu 100 mL Congo Red Puchtler radne otopine pomiješati 20 mL Congo Red, Puchtler reagensa s 80 mL 100%-tnog etilnog alkohola (BioGnostov Histanol 100). Dodati 1 mL Natrijevog hidroksida, otopine.

Congo Red Puchtler radnu otopinu je potrebno pripremiti svježu prije upotrebe i nakon upotrebe baciti. Prema potrebi reagense filtrirati neposredno prije upotrebe (veličina pora - 25 µm).

Napomena

- Postupak bojenja Congo Red Puchtler radnom otopinom preporuča se izvoditi u staklenoj posudici za bojenje (tip Coplin) u koju stane do 8 preparata.
- Postupak bojenja izvodi se u digestoru.

Postupak bojenja histoloških preparata:

1.	Deparafinacija u ksilenom (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.	Nakapati preparate Hematoksilinom G1 (≥5 kapi)	5 minuta
6.	Ispiranje tekućom vodovodnom vodom	4 minute
7.	Uroniti preparate u svježe pripremljenu Congo Red radnu otopinu	18 minuta
8.	Ispiranje tekućom vodovodnom vodom	do prestanka otpuštanja boje (nekoliko minuta)
9.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	10 urona

10.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
11.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 minute
12.	Bistrenje u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 5 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 staklom.

Rezultat

Amiloidne nakupine – cigla-crvena boja, pod polarizacijskim svjetlom zelena boja

Kolagen – svijetlocrvena boja, pod polarizacijskim svjetlom sivo-srebrna boja

Jezgre – plava boja

Napomena

Korištenjem polarizirane svjetlosti amiloidne nakupine pokazuju svojstvo dvostruke refrakcije svjetlosti (zelena boja). Korektan prikaz amiloida ovom tehnikom gledanja i snimanja ovisi o debljini preparata, pravilnom korištenju polarizacije, te o pravilnoj korekciji digitalnog zapisa.

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojenje uzoraka. 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 uzoraka 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

Congo Red Puchtler 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

1. Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.
2. Elghetany, M.T., Saleem, A., Barr, K. (1989), The congo red stain revisited, Annals of Clinical and Laboratory Science, 19(3):190-5.

CRP-X, V7, 10.03.2022., KB/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.
Medugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

