

# CRESYL VIOLET, OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Otopina za primjenu kod bojenja u Luxol Fast Blue kompletu

### UPUTA ZA RUKOVANJE

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

#### Uvod

Cresyl Violet, otopina koristi se u histologiji kod bojenja u Luxol Fast Blue kompletu (prema Kluewer-Barrera metodi) za vizualizaciju mijelina, Nisslovih tjelešaca i prikazivanje osnovne strukture moždanog i tkiva leđne moždine. Cresyl Violet, otopina boji neurona i jezgara glija stanica ružičasto-ljubičasto.

#### Opis proizvoda

- CRESYL VIOLET, OTOPINA** – Otopina za primjenu kod bojenja u Luxol Fast Blue kompletu.

#### Primjer bojenja Cresyl Violet, otopine kao komponente Luxol Fast Blue kompleta:

Luxol Fast Blue komplet sadrži:	100 testiranja (LFB-100T)	3x 100 mL (LFB-K-100)
Luxol Fast Blue, otopina	30 mL (LFB-OT-30)	100 mL (LFB-OT-100)
Litijev karbonat, Luxol	30 mL (LKL-OT-30)	100 mL (LKL-OT-100)
Cresyl Violet, otopina	30 mL (CV-OT-30)	100 mL (CV-OT-100)

#### 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).
- Prosvjetliiti 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).
- Parafinski blok rezati na debljinu preparata od **5-7**  $\mu\text{m}$  i montirati na adhezivno VitoGnost predmetno staklo.

#### Postupak bojenja uzorka

**Napomena:** kapati reagense na preparat te ih potpuno prekriti. Kako ne bi došlo isparavanja otopina, koristiti inkubacijske (npr. Petrijeve) posudice. Po potrebi nakapati još otopine ukoliko dođe do isparavanja.

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.	Bojenje Luxol Fast Blue, otopinom	preko noći na 37°C ili 2 sata na 60°C
5.	Ispiranje u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95) do otapanja formiranih kristala	nekoliko brzih urona
6.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Tretiranje otopinom Litijevog karbonata, Luxol	5-30 sekundi
	Napomena: provjeriti pod mikroskopom da li se siva tvar razlikuje od bijele tvari, ponoviti ovaj korak ukoliko je potrebno	
8.	Uroniti preparat u 70%-tni alkohol (Histanol 70) i ostaviti dok mijelinska vlakna ne postanu plava na bezbojnoj pozadini (mikroskopski provjeriti)	nekoliko brzih urona
9.	Dvapat isprati u destiliranoj (demi) vodi	nekoliko urona
10.	Nakapati 10 kapi Cresyl Violet, otopine	30-60 minuta na 60°C
11.	Uroniti preparat u 95%-tni alkohol (Histanol 95) i kratko ostaviti dok Nisslova tjelešca ne postanu blijedo ružičasta	Nekoliko kratkih urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
13.	Bistrenje u ksilenu (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 VitoGnost pokrovnim staklom.

#### Rezultat

Mijelin – tirkizno plava boja

Neuroni i jezgre glija stanica – ružičasta do ljubičasta boja

Nisslova tjelešca – blijedo ružičasta 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 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

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

## Literatura

1. Kluver et Barrera (1953), A method for the combined staining cells and fibres of nervous system, J Neuropathol and Exp Neurology, 49:67-69
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.

CV-OT-X, V3, 29.09.2023., 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		Za jednokratnu upotrebu		Broj serije		Proizvođač
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo		Vrijedi do		



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

