

NEUTRAL RED REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Vodena otopina Neutral Red boje za primjenu u specijalnim kompletima

UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Neutral Red reagens namijenjen je različitim metodama bojenja u histologiji i citologiji. Prvenstveno se koristi kao boja za jezgre i bazofilne strukture, ali može se koristiti i kao fluorokromna boja. Koristi se za supravitalno bojanje, kao kontrastna boja kod bojanja po Gramu, za bojenje Nisslovih tjelešaca i kao dio Twortove histološke boje za polikromatsko bojanje. Neutral Red boja je također pH indikator koji mijenja boju od crvene do žute u pH rasponu od 6.8 do 8.0.

Opis proizvoda

- **NEUTRAL RED REAGENS** – Vodena otopina Neutral Red boje s dodatkom stabilizatora.

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

- 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 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- 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

Priprema histoloških preparata za bojanje

- Uzorak 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 uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (BioWax Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

Priprema stanične kulture za bojanje

- Uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%) kroz 10-20 minuta.
- Dvaput ispirati u destiliranoj (demi) vodi u trajanju od 2-5 minuta.

Primjer postupka bojenja histoloških preparata i stanične kulture Neutral Red reagensom

Za bojenje histoloških preparata Neutral Red reagens uliti u posudicu za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalnu bočicu. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagens filtrirati.

Za bojenje staničnih kultura krenuti od koraka br. 5!

1.	Deparafinacija u ksilenom (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.	Uroniti u (ili nanijeti) Neutral Red reagens	2-10 minuta
Napomena: svaka stanična linija ima individualno optimalno vrijeme bojenja koje ovisi o fiksaciji		
6.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	2 izmjene u trajanju od 2 minute
7.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
8.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
9.	Bistrenje u ksilenom (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 (Napomena: korake 7., 8. i 9. moguće je preskočiti kod bojenja staničnih kultura).

Rezultat

Jezgre – crvena boja

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje uzoraka i njihovu 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 mjere zaštite ljudskog zdravlja 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

Neutral Red reagens potrebno je čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Držati na suhom, ne zamrzavati i izbjegavati izlaganje direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok valjanosti je otisnut na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Conn, J. (1977): *Biological Stains*, 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins Co.
2. Carson, F. L., Hladik, C. (2009): *Histotechnology: A Self-Instructional Text*, 3rd ed., Chicago: ASCP Press
3. Twort, F. W. (1924): An improved neutral red, light green double stain for staining animal parasites, microorganisms and tissues, *Journal of State Medicine*, 32: 351.
4. Gram, H. C. (1884): Über die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten, *Fortschritte der Medizin* 2: 185–9.

NR-OT-100, V1, 29.10.2018., IŠP/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Opazuj lomljivo

	Kataloški broj		Europska sukladnost
	Broj serije		Proizvođač

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

