

ORCEIN REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu u Orcein kompletu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: ORCR-OT-250 (250 mL)

Uvod

Orcein reagens sastavni je dio Orcein kompleta koji se koristi za identifikaciju inkluzijskih tjelešaca površinskih antigena virusa Hepatitisa B (HBsAg), elastičnih vlakana i proteinskih kompleksa s bakrom. Komplet se može koristiti na preparatima uklopljenim u parafin, ali i na smrznutim prerezima. Poželjno je da su preparati prethodno fiksirani neutralno puferiranim formaldehidom.

Opis proizvoda

ORCEIN REAGENS – Alkoholni reagens koji sadrži Orcein boju

Primjer primjene Orcein reagensa kao komponente Orcein kompleta

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 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 pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za umerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostovi reagensi koji čine Orcein komplet: Kalijev permanganat, 1%-tna otopina, Sumporna kiselina, 0,3%-tna otopina, Oksalna kiselina, 2%-tna otopina i Kiseli alkohol, Orcein

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.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (ORC-100T)

| | | |
|-----|--|--------------------------------------|
| 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. | Nakapati 5 kapi Kalij permanganat, 1%-tne otopine i 5 kapi Sumporne kiseline, 0,3%-tne otopine | ostaviti da djeluje 10 minuta |
| 6. | Ocijediti preparat i bez ispiranja preći na slijedeći korak | |
| 7. | Tretirati Oksalnom kiselinom, 2%-tnom otopinom (≥ 5 kapi) | ostaviti da djeluje 10 minuta |
| 8. | Isprati u destiliranoj (demi) vodi | |
| 9. | Uroniti u Orcein reagens | ostaviti da djeluje 1- 4 sata |
| | Napomena: Reagens uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te poklopiti tijekom bojenja kako bi se smanjila mogućnost isparavanja. Nakon bojenja vratiti u originalnu bočicu i dobro zatvoriti. | |
| 10. | Isprati u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70) | 5 urona |
| 11. | Uroiti u Kiseli alkohol, Orcein i diferencirati preparat | 10 urona |
| | Napomena: ovaj korak se može preskočiti ili prilagoditi, ovisno o zahtjevima pojedinog laboratorija | |
| 12. | Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70) | 10 urona po 1 sekundu |
| 13. | Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95) | 10 urona po 1 sekundu |
| 14. | Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100) | 10 urona po 1 sekundu |
| 15. | 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.

b) kompletom s pet reagensa od 250 mL (ORC-K-250)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

| | | |
|-----|--|--------------------------------------|
| 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. | Pomiješati jednaki volumen Kalijevog permanganata, 1%-tne otopine i Sumporne kiseline, 0,3%-tne otopine i uroniti preparat | ostaviti da djeluje 10 minuta |
| | Napomena: nakon upotrebe otopinu baciti | |
| 6. | Preparat ocijediti te uroniti u Oksalnu kiselinu, 2%-tnu otopinu | ostaviti da djeluje 10 minuta |
| 7. | Isprati u destiliranoj (demi) vodi | |
| 8. | Uroniti u Orcein reagens | ostaviti da djeluje 1- 4 sata |
| | Napomena: Posudicu s reagensom poklopiti tijekom bojenja kako bi se smanjila mogućnost isparavanja. Nakon bojenja vratiti u originalnu bočicu i dobro zatvoriti. | |
| 9. | Isprati u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70) | 5 urona |
| 10. | Uroniti u Kiseli alkohol, Orcein i diferencirati | 10 urona |
| | Napomena: ovaj korak se može preskočiti ili prilagoditi, ovisno o zahtjevima pojedinog laboratorija | |
| 11. | Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70) | 10 urona po 1 sekundu |
| 12. | Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95) | 10 urona po 1 sekundu |
| 13. | Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100) | 10 urona po 1 sekundu |
| 14. | 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

Elastična vlakna, HBsAg, proteinski kompleksi s bakrom – crveno-ljubičasto-smeđe obojenje

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 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

Orcein reagens čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od 15 °C do 25°C. 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. Livingstone, C. Theory and practice of Histological Techniques – 5^o edizione 2002.
2. Deadhar, K.P., Tapp, E., Scheuer, P.J. (1975): Orcein staining of Hepatitis B Antigen in paraffin section of Liver Biopsis, *Journal of Clinical Pathology*, vol. 28: str. 66-70
3. Salaspuro, M., Sipponen, P. (1976): Demonstration of an intracellular copper-binding protein by Orcein staining in long-standing cholestatic liver diseases, *Gut*, volume: 17, str. 787-790.

ORCR-X, V1,17.09.2018., IŠP/VR

| | | | | |
|--|--|--|--|---|
|  Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju |  Temperaturni raspon čuvanja |  Broj testova u pakovanju |  REF Kataloški broj |  Europska sukladnost |
|  Pročitati priloženu uputu |  Čuvati od topline i sunčevog svjetla |  Vrijedi do |  LOT 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

