

ORCEIN KOMPLET



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Komplet za vizualizaciju površinskih antigena Hepatitisa B (HBsAg) vidljivih kao virusna inkluzijska tjelešca, elastičnih vlakana i proteinskih kompleksa s bakrom

UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC30708STARVF		
EMDN kód	W01030708		
REF Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj	
ORC-100T	100 testiranja	03858890004557	
ORC-K-250	5x250 mL	03858890008357	



Namjena proizvoda i načelo testiranja

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

Opis proizvoda

- ORCEIN KOMPLET** - Komplet od pet reagensa za vizualizaciju površinskih antigena Hepatitisa B (HBsAg), elastičnih vlakana i proteinskih kompleksa s bakrom

Komplet sadrži:	100 testiranja (ORC-100T)	5 x 250 mL (ORC-K-250)	Temperatura pohrane
Orcein reagens	100 mL (ORCR-OT-100)	250 mL (ORCR-OT-250)	15-25 °C
Kalijev permanganat, 1%-tna otopina	30 mL (KP1-OT-30)	250 mL (KP1-OT-250)	15-25 °C
Sumporna kiselina, 0.3%-tna, otopina	30 mL (SK03-OT-30)	250 mL (SK03-OT-250)	15-25 °C
Oksalna kiselina, 2%-tna otopina	30 mL (OKS2-OT-30)	250 mL (OKS2-OT-250)	15-25 °C
Kiseli alkohol, Orcein	100 mL (KAO-OT-100)	250 mL (KAO-OT-250)	15-25 °C

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodici:

- 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 bistrenje poput BioClear ksilena ili BioClear New supstituta ksilena na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue
- 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, BioMount Aqua
- VitroGnost predmetna i pokrovna stakla za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%) i procesirati
- Ukloniti tkivo u parafinski blok (BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue)
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

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

1.	Deparafinacija u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
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/demineraliziranoj 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 (nakapti ≥ 5 kapi)	ostaviti da djeluje 10 minuta
8.	Isprati u destiliranoj/demineraliziranoj 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.	Uroniti u Kiseli alkohol, Orcein i diferencirati preparat	1-10 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 ksileni (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.

Mješavina otopina Kalijevog permanganata i Sumporne kiseline u koraku br. 5 namijenjena je jednokratnoj upotrebi. Pripremiti volumen otopine koji će se iskoristiti u postupku bojenja, a nakon upotrebe baciti.

1.	Deparafinacija u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
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/demineraliziranoj 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
6.	Preparat ocijediti te uroniti u Oksalnu kiselinu, 2%-tnu otopinu	ostaviti da djeluje 10 minuta
7.	Isprati u destiliranoj/demineraliziranoj 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	1-10 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 ksileni (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

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka bojenja opisanog u ovoj Uputi za rukovanje mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, montiranje preparata, bojenje i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole. Ukoliko tijekom upotrebe proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

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. Reagensi korišteni 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, transport, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. 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° 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.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:	
	H225 Lako zapaljiva tekućina i para. P210 Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti. P233 Čuvati u dobro zatvorenom spremniku. P280 Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.

ORC-IFU_HRV9, 13.05.2024. LO/VR

 Proizvođač	 Broj serije	 Temperaturno ograničenje	 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Jedinствена Identifikacija proizvoda
 Datum proizvodnje	 Kataloški broj	 Pročitati priloženu uputu	 Sadrži dovoljno za <n>testova	
 Rok uporabe	 Lomljivo, pažljivo rukovati	 Oprez	 Europska sukladnost	

 **BioGnost d.o.o.**
Međugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.biognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
9	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	13.05.2024.