

# PARALDEHID FUCHSIN KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od sedam reagensa za utvrđivanje patoloških promjena u elastičnim vlaknima prema Gomoriju

### UPUTA ZA RUKOVANJE

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

PAF-K-100 (9 x 100 mL)

#### Uvod

Paraldehid Fuchsin komplet koristi se za vizualizaciju i utvrđivanje patoloških promjena u elastičnim vlaknima, poput atrofije elastičnog tkiva, gubitka ili prorjeđivanja elastičnog tkiva uslijed arteroskleroznih promjena ili krvožilnih bolesti. Također se koristi za bojenje beta stanica gušterače, granulata mastocita, mucina, hrskavice, argentafilnih granulata i akrosoma spermija.

#### Opis proizvoda

- **PARALDEHID FUCHSIN KOMPLET** – Komplet za bojenje elastičnih vlakana, beta stanica gušterače, mastocita, mucina i hrskavice.

Komplet sadrži:	100 testiranja (PAF-100T)	9 x 100 mL (PAF-K-100)
Kalijev permanganat, 0,5%-tna otopina	30 mL (KP05-OT-30)	100 mL (KP05-OT-100)
Sumporna kiselina, 0,5%-tna otopina	30 mL (SK05-OT-30)	100 mL (SK05-OT-100)
Oksalna kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (OKS1-OT-30)	100 mL (OKS1-OT-100)
Histanol 70	2 x 30 mL (H70-30)	2 x 100 mL (H70-100)
Paraldehid Fuchsin reagens	2 x 30 mL (PAF-OT-30)	2 x 100 mL (PAF-OT-100)
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	30 mL (KR-OT-30)	100 mL (KR-OT-100)
Fast Green F.C.F. reagens	30 mL (FGR-OT-30)	100 mL (FGR-OT-100)

#### 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 uklopavanje 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 umerizaciju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

#### 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 VitroGnost predmetno staklo.

#### NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

#### Postupak bojenja uzorka

##### a) kompletom za 100 testiranja (PAF-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 Kalijevog permanganata, 0,5%-tne otopine i 5 kapi Sumporne kiseline, 0,5%-tne otopine. Lagano promiješati na preparatu i ostaviti da djeluje.	10 minuta
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Nakapati Oksalnu kiselinu, 1%-tnu otopinu ( $\geq 5$ kapi)	5 minuta
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Tretirati Histanolom 70 (nakapati $\geq 5$ kapi)	5 minuta
10.	Bez ispiranja, ocijediti preparat i nanijeti Paraldehyd Fuchsin reagens ( $\geq 10$ kapi)	5-20 minuta
	Napomena: zadovoljavajuće rezultate bojenja postižete već nakon 5 minuta izlaganja preparata reagensu. Međutim, ukoliko želite jače i intenzivnije boje na preparatu, držite Paraldehyd Fuchsin reagens 20 minuta na preparatu, ali pritom umetnite preparat u inkubacijsku kutijicu zbog isparavanja reagensa.	
11.	Ocijediti preparat i tretirati Histanolom 70 (nakapati $\geq 5$ kapi)	10 minuta
12.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
13.	Bojiti Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom (nakapati $\geq 5$ kapi)	10 minuta
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
15.	Bojiti Fast Green F.C.F. reagensom (nakapati $\geq 5$ kapi)	5 minuta

16.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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 sa sedam reagensa od 100 ili 500 mL (PAF-K-100, PAF-K-500)

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, 0,5%-tne otopine i Sumporne kiseline, 0,5%-tne otopine. Lagano promiješati i uroniti preparat.	10 minuta
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Uroniti u Oksalnu kiselinu, 1%-tnu otopinu	5 minuta
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Uroniti u Histanol 70	5 minuta
10.	Bez ispiranja, ocijediti preparat i uroniti u Paraldehyd Fuchsin reagens	5-20 minuta
	Napomena: zadovoljavajuće rezultate bojenja postizete već nakon 5 minuta izlaganja preparata reagensu. Međutim, ukoliko želite jače i intenzivnije boje na preparatu, držite preparat u Paraldehyd Fuchsin reagensu 20 minuta, ali pritom poklopite posudicu zbog isparavanja reagensa.	
11.	Ocijediti preparat i uroniti u Histanol 70	10 minuta
12.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
13.	Bojiti Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom	10 minuta
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
15.	Bojiti Fast Green F.C.F. reagensom	5 minuta
16.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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

Granule beta stanica gušterače, elastična vlakna, mastociti, sulfatni mucini – tamno ljubičasta boja

Jezgre – crveno-ljubičasta boja

Vezivno tkivo – zelena 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 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, postupak bojenja 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

Paraldehyd Fuchsin komplet 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. Culling, C.F.A.(1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Gomori, G. (1950): Aldehyde-Fuchsin: A New Stain for Elastic Tissue, Am. J. Clin. Path., 20; str. 665.-666. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory an Practice Histotechnology, 2<sup>nd</sup> ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

PAF-X, V6, 15.02.2017., AK/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	 Za jednokratnu upotrebu	 LOT 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

