

PERJODNA KISELINA, 1%-TNA OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Sinonim: Periodic acid, ortoperjodna kiselina
UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: PK1-OT-100 (100 mL) PK1-OT-250 (250 mL) PK1-OT-500 (500 mL)

Uvod

Perjodna kiselina, 1%-tna otopina (kem. formula H_5IO_6) često se koristi u specijalnim bojenjima u histopatologiji kao što je Alcian Yellow Toluidine Blue komplet, Grocott komplet, stabilizirani i P.A.S.M./Jones komplet, stabilizirani.

Opis proizvoda

PERJODNA KISELINA, 1% OTOPINA – vodena otopina perjodne kiseline.

Primjer primjene Perjodne kiseline, 1%-tne otopine u Grocott kompletu, stabilizirani

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

- 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 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
- Ostale komponente Grocott kompleta, stabiliziranog: Zlatni klorid 0,6%-tna otopina (ZK06-OT-30, ZK06-OT-100), Srebrni nitrat, stabilizirana otopina (SNS-OT-100, SNS-OT-500, Metenamin, otopina (MET-OT-50, MET-OT-100), Boraks, otopina (BO-OT-35, BO-OT-105), Natrijev tiosulfat, 2%-tna otopina (NT2-OT-30, NT2-OT-100), Fast Green F.C.F. kontrast reagens (FGKR-OT-30, FGKR-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).
- 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.

UPOZORENJE:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu visoke čistoće **bez** imalo klora (električne provodljivosti $< 5,5 \mu S$)
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dodirivati preparate ili otopine metalnim predmetima (metalne žlice, pincete i sl.) tijekom bojenja
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat
- reagense čuvati na sobnoj temperaturi (od $+15^\circ C$ do $+25^\circ C$). Na nižoj temperaturi može doći do taloženja u reagensima i neučinkovitog bojenja

Postupak bojenja uzorka

Grocott komplet, stabilizirani za 100 testiranja za bojenje gljivica i bazalnih membrana

Priprema srebro-metenamin-boratne radne otopine:

Volumen 40 ml (optimalno za Coplin posudu):

U posudu dodati 15 mL dvostruko destilirane (demi) vode, 3 mL Metenamina, otopine i 2 mL Boraksa, otopine. Zatim dodati 20 mL Srebrnog nitrata, stabilizirane otopine i promiješati staklenim štapićem

1.	Deparafinacija preparata u ksilenom (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 3 i 2 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Nakapati Perjodnu kiselinu, 1%-tnu otopinu	5 minuta za oksidaciju gljivica
	Napomena: za oksidaciju bazalne membrane produžiti inkubaciju	11 minuta
6.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
7.	Svježe pripremiti srebro-metenamin-boratnu radnu otopinu i inkubirati s preparatima na $+56^\circ C$ u vodenoj kupelji. Prema potrebi mikroskopski provjeravati obojenje preparata.	20-25 minuta za bojenje gljivica
	Napomena: za bojenje bazalne membrane inkubirati 30 minuta pa vizualno provjeravati do željenog intenziteta obojenja (bazalne membrane poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini)	30-35 minuta
8.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
9.	Nakapati Zlatni klorid, 0,6%-tnu otopinu	30-60 sekundi
	Napomena: dulje izlaganje otopini Zlatnog klorida, 0,6% pomiče nijansu obojenja membrana od crne prema sivoj boji	

10.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
11.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 2%-tnu otopinu	2 minute
12.	Isprati pod indirektnim mlazom tekuće vodovodne vode	2 minute
13.	Nakapati Fast Green F.C.F. kontrast reagens	2-3 minute
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
15.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
16.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
18.	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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Bazalne membrane, glikogen, bakterije i gljivice - crna boja
Pozadina – zelena boja

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani u kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Periodi navedeni u Uputi okvirno odgovaraju dugogodišnjem načinu rada s optimalnim rezultatima. 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 najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti 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. 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 proizvođača i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Perjodnu kiselinu, 1% otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvođača.

Literatura

1. Culling, C.F.A.(1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Davey, F.R. et Nelson, D.A.(1977): Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed., W. J. Williams, E. Buetler, A. J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630-1632.
3. Hotchkiss, R.D.(1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations, Arch. Biochem. 16, str. 131.
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

PK1-OT-X, V5, 17.05.2022., 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	 Vrijedi do	 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

