

# RETIKULIN KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od sedam reagensa za dokazivanje retikulinskih vlakana

### UPUTA ZA RUKOVANJE

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

RE-K-50 (7x50 mL)

RE-K-100 (7x100 mL)

#### Uvod

Retikulin komplet koristi se za identifikaciju i lakšu vizualizaciju argentafilnih retikulinskih vlakana u vezivnom tkivu. Retikulin ima potpornu funkciju u tijelu te se nalazi u jetri, slezeni i bubrežima. Kod zdrave jetre, retikulinska vlakna su jasno definirana, dok su kod nekrotične i cirozne jetre isprekidana. Princip testa temelji se na taloženju srebra na retikulinska vlakna. Tkivni uzorak potrebno je najprije oksidirati kalijevim permanganatom. Srebro se formira iz amonijeve otopine sa srebrnim nitratom te se taloži u obliku smeđeg taloga na retikulinska vlakna. Formalin, koji ima ulogu reducensa, ubrzava cijeli postupak. Pomoću natrijevog tiosulfata ispirje se i uklanja nevezano srebro.

#### Opis proizvoda

- **RETIKULIN KOMPLET** - Komplet od 7 reagensa za dokazivanje retikulinskih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (RE-100T)	7 x 50 mL (RE-K-50)	7 x 100 mL (RE-K-100)	Temperatura skladištenja:
Kalijev permanganat, 0,5%-tina otopina	30 mL (KP05-OT-30)	50 mL (KP05-OT-50)	100 mL (KP05-OT-100)	15-25°C
Sumporna kiselina 3%-tina, otopina	30 mL (SK3-OT-30)	50 mL (SK3-OT-50)	100 mL (SK3-OT-100)	15-25°C
Oksalna kiselina, 1%-tina otopina	30 mL (OKS1-OT-30)	50 mL (OKS1-OT-50)	100 mL (OKS1-OT-100)	15-25°C
Amonij željezo sulfat, otopina	30 mL (ASF-OT-30)	50 mL (ASF-OT-50)	100 mL (ASF-OT-100)	15-25°C
Srebro amonijeva, otopina	30 mL (SA-OT-30)	50 mL (SA-OT-50)	100 mL (SA-OT-100)	2-8°C
Formaldehid 4%-tini, alkoholna otopina	30 mL (F4A-OT-30)	50 mL (F4A-OT-50)	100 mL (F4A-OT-100)	15-25°C
Natrijev tiosulfat, 5%-tina otopina	30 mL (NT5-OT-30)	50 mL (NT5-OT-50)	100 mL (NT5-OT-100)	15-25°C

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

#### NAPOMENA

Kako bi postigli što bolje rezultate slijedite ova pravila:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu visoke čistoće **BEZ** imalo klora
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dovoditi metalne objekte u kontakt s otopinama (škarice, pincete i sl.)
- nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat
- ukoliko dođe do pojave taloga u reagensu *Amonij željezo sulfat, otopina*, istu je potrebno filtrirati (talog ne utječe na kvalitetu bojenja)

#### Postupak bojenja uzorka

##### a) kompletom za 100 testiranja (RE-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, 0,5%-tne otopine i 5 kapi Sumporne kiseline, 3% otopine	5 minuta
6.	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
7.	Tretirati Oksalnom kiselinom, 1%-tnom otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	3 minute
8.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
9.	Tretirati Amonij željezo sulfat, otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	3 minute
10.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
11.	Tretirati Srebro amonijevom otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	3 minute
12.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
13.	Tretirati Formaldehidom 4%, alkoholnom otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	5 minuta
14.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
15.	Tretirati Natrijevim tiosulfat, otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	5 minuta
16.	Ispirati u tekućoj vodovodnoj vodi	5 minuta
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona

<b>18.</b>	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
<b>19.</b>	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
<b>20.</b>	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 stakлом.

### b) kompletom sa sedam reagensa od 50 mL (RE-K-50) i 100 mL (RE-K-100)

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

<b>1.</b>	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
<b>2.</b>	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
<b>3.</b>	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
<b>4.</b>	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
<b>5.</b>	Pripremiti radnu otopinu: pomiješati jednak volumen otopine kalijeva permanganata i otopine sumporne kiseline  Napomena: Uvijek pripremati svježu radnu otopinu. Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata.	
<b>6.</b>	Uroniti preparat u radnu otopinu i pustiti da djeluje	5 minuta
<b>7.</b>	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
<b>8.</b>	Uroniti u 1%-tnu otopinu oksalne kiseline	3 minute
<b>9.</b>	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
<b>10.</b>	Uroniti u Amonij željezo sulfat, otopinu	3 minute
<b>11.</b>	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
<b>12.</b>	Uroniti u Srebro amonijevu otopinu	3 minute
<b>13.</b>	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
<b>14.</b>	Uroniti u Formaldehid 4%, alkoholnu otopinu	5 minuta
<b>15.</b>	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
<b>16.</b>	Uroniti u otopinu natrijeva tiosulfata	5 minuta
<b>17.</b>	Ispirati u tekućoj vodovodnoj vodi	5 minuta
<b>18.</b>	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
<b>19.</b>	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
<b>20.</b>	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
<b>21.</b>	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 stakлом.

### Rezultat

Retikularna i živčana vlakna – tamnoljubičasta do crna boja

Veživno tkivo i eritrociti – smeđa boja

Kolagen – žučkasto smeđa boja

### Napomena

Postupci bojanja u mikrobiologiji nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorijskih i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzorka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorijske obrade uzorka i bojanje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

### Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorce 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 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.

### 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 mјere 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

Reagensi Retikulin kompleta imaju različite temperaturne režime čuvanja, označenim na njihovim etiketama. Reagense čuvati na propisanim temperaturama, držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

### Literatura

1. Gomori, G. (1939): The effect of certain factors on result of silver impregnation for Reticulum fibers, Am. J. Path., 15; 493-495
2. Gordon et Sweet, H. (1936): A rapid method for silver impregnation of reticulum, Am. J. Path., 12: 545-551

RE-X, V5, 28.02.2019., IŠP/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju		Kataloški broj		Europska sukladnost
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topoline i sunčevog svjetla		Vrijedi do		Broj serije		Proizvođač
	Samo za in vitro dijagnostički primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo				

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

