

RETIKULIN KONTRAST KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od devet reagensa za dokazivanje retikulinskih vlakana prema Gordon i Sweetsu UPUTA ZA RUKOVANJE

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

RET-K-50 (9x50 mL)

RET-K-100 (9x100 mL)

Uvod

Retikulin kontrast komplet koristi se za identifikaciju i lakšu vizualizaciju argentafilnih retikulinskih vlakana u vezivnom tkivu. Retikulin ima potpunu funkciju u tijelu te se nalazi u jetri, slezeni i bubrezima. Kod zdrave jetre, retikulinska vlakna su jasno definirana, dok su kod nekrotične i cirozne jetra 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 ispire se i uklanja nevezano srebro. Retikulin kontrast komplet sadrži i otopinu zlatnog klorida koji ujedno stabilizira i tonira sliku preparata. Unutar kompleta nalazi se i kontrastna boja, Nuclear Fast Red (Kernechtrot).

Opis proizvoda

- RETIKULIN KONTRAST KOMPLET - Komplet od 9 reagensa za dokazivanje retikulinskih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (RET-100T)	9 x 50 mL (RET-K-50)	9 x 100 mL (RET-K-100)	Temperatura skladištenja:
Kalijev permanganat, 0,5%-tna otopina	30 mL (KP05-OT-30)	50 mL (KP05-OT-50)	100 mL (KP05-OT-100)	15-25°C
Sumporna kiselina 3%-tna, otopina	30 mL (SK3-OT-30)	50 mL (SK3-OT-50)	100 mL (SK3-OT-100)	15-25°C
Oksalna kiselina, 1%-tna 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%-tni, alkoholna otopina	30 mL (F4A-OT-30)	50 mL (F4A-OT-50)	100 mL (F4A-OT-100)	15-25°C
Zlatni klorid, 0,2%-tna otopina	30 mL (ZK02-OT-30)	50 mL (ZK02-OT-50)	100 mL (ZK02-OT-100)	15-25°C
Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina	30 mL (NT5-OT-30)	50 mL (NT5-OT-50)	100 mL (NT5-OT-100)	15-25°C
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	30 mL (KR-OT-30)	50 mL (KR-OT-50)	100 mL (KR-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 pokrovnna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imeriziju 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 klor
- 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 (RET-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%-tne 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 ≥ 5 kapi)	1 minuta
8.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
9.	Tretirati Amonij željezo sulfat, otopinom (nakapati ≥ 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 ≥ 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 ≥ 5 kapi)	5 minuta
14.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
15.	Tonirati Zlatnim kloridom, 0,2%-tnom otopinom	ostaviti da djeluje 2 minute
16.	Isprati u destiliranoj vodi	
17.	Tretirati Natrijevim tiosulfat, 5%-tnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	ostaviti da djeluje 2 minuta
18.	Ispirati u destiliranoj vodi	
19.	Bojiti Nuclear Fast Red (Kernecht) reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	ostaviti da djeluje 5 minuta

20.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
21.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
22.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
23.	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 devet reagensa od 50 mL (RET-K-50) i 100 mL (RET-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.

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.	Pripremiti radnu otopinu: pomiješati jednaki volumen otopine kalijeva permanganata i otopine sumporne kiseline. Napomena: Uvijek pripremati svježu radnu otopinu.	
6.	Uroniti preparat u radnu otopinu i pustiti da djeluje	5 minuta
7.	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
8.	Uroniti u 1%-tnu otopinu oksalne kiseline	1 minuta
9.	Dvapat isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
10.	Uroniti u Amonij željezo sulfat, otopinu	3 minute
11.	Dvapat isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
12.	Uroniti u Srebro amonijevu otopinu	3 minute
13.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
14.	Uroniti u Formaldehid 4%, alkoholnu otopinu	5 minuta
15.	Dvapat isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
16.	Uroniti u Zlatni klorid, 0,2%-tnu otopinu	2 minute
17.	Isprati u destiliranoj vodi (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
18.	Uroniti u Natrijev tiosulfat, 5%-tnu otopinu	2 minute
19.	Ispirati u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
20.	Uroniti u Nuclear Fast Red (Kernecht) reagens	5 minuta
21.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
22.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
23.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
24.	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

Retikularna i živčana vlakna – tamnoljubičasta do crna boja,

Jezgre – ružičasta do crvena boja

Kolagen – oker do smeđecrna boja

Pozadina – nježno ružičasta boja

Napomena

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

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.

Skладиštenje, stabilnost i rok valjanosti

Reagensi Retikulin kontrast 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

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

RET-X, V13, 01.06.2020., IŠP/VR

 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	 Opazuj lomljivo		

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

