

TOLUIDINE BLUE, OTOPINA

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod CE

Otopina za bojenje jezgre i metakromatsko bojenje mastocita u vezivnom tkivu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: TB-OT-100 (100 mL)

TB-OT-250 (250 mL)

Uvod

Toluidine Blue, otopina često se koristi za metakromatsko bojenje, karakteristično za kationske ili bazične boje koje djelomično ovisi o pH, koncentraciji boje i temperaturi. Pritom plave ili ljubičaste boje pokazuju pomak u crvenu boju, dok crvene boje pokazuju pomak u žutu boju na metakromatskim tkivnim elementima. Metakromatsko obojenje tipično je za mukopolisaharide (posebno one s brojnim sulfatnim skupinama), hrskavicu, cilindrične stanice i granule mastocita.

Opis proizvoda

- TOLUIDINE BLUE, OTOPINA** – 1%-tna Toluidine blue otopina za bojenje jezgre i metakromatsko bojenje mastocita

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 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 Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua
- 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 umerziju 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 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka; bojenje jezgri / opći pregled uzorka

Napomena: kod bojenja citoloških uzoraka, postupak bojenja započeti od rehidracije u 95%-tnom alkoholu (korak 3)

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Početak rehidracije 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.	Ispiranje u destiliranoj vodi	1 minuta
6.	Bojenje Toluidine Blue, otopinom	10-20 minuta
7.	Ispiranje u destiliranoj vodi	1 minuta
8.	*Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
9.	**Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene s 10 urona
10.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minuta

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.

*Ukoliko nema potrebe za izradom trajnog preparata, nakon ispiranja u destiliranoj vodi na preparat se sredstvo za prekrivanje na bazi vode (BioMount Aqua) i prekrije pokrovnim staklom.

** Predugo izlaganje alkoholu uzrokuje ispiranje Toluidine Blue boje s preparata.

Rezultat

Jezgre – tamno plava boja

Tkivo – plava boja

Postupak bojenja uzorka; metakromatsko bojenje

Napomena: kod bojenja citoloških uzoraka, postupak bojenja započeti od rehidracije u 95%-tnom alkoholu (korak 3)

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.	Ispiranje u destiliranoj vodi	1 minuta
6.	Bojenje Toluidine Blue, otopinom ili bojenje u razrijeđenoj 0,01%-tnoj Toluidine Blue, otopini*	1-2minute 5-10 minuta
7.	Ispiranje u destiliranoj vodi	1 minuta
8.	**Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
9.	***Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona u 2 izmjene
10.	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.

* Pomiješati 1 mL Toluidine Blue, otopine i 99 mL destilirane/demineralizirane vode.

**Ukoliko nema potrebe za izradom trajnog preparata, nakon ispiranja u destiliranoj vodi na preparat se nanese sredstvo za prekrivanje na bazi vode (BioMount Aqua) i prekrije pokrovnim staklom.

*** Predugo izlaganje alkoholu uzrokuje ispiranje Toluidine Blue boje s preparata.

Rezultat

Jezgre i citoplazma – (ortokromatsko bojenje) plava boja

Razni kiseli ugljikohidrati* – (metakromatsko bojenje) ružičasta do crvena ili ljubičasta boja

* Metakromatski se boje vezivna tkiva, mucini, bazične supstance hrskavice, granule mastocita, mnogi epitelni mucini.

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu standardizirani. Intenzitet bojenja ovisi o vremenu izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje uzoraka i njihovu pripremu moraju se koristiti prikladni instrumenti. Svi uzorci moraju se obrađivati najsuvremenijom tehnologijom te biti jasno obilježeni. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja mora izvoditi stručna osoba. Dijagnoze mogu postavljati samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

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 s obavijestima i znakovima upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u Biognostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Toluidine Blue, otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Scott, S. G. (1912): On successive double staining for histological purposes Journal of Pathology and Bacteriology, v. 16, p. 390-398.
2. Sheehan, D.C. i Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice of Histotechnology, 2nd ed St. Louise: CV Mosby Co.
3. Kiernan J. A. (2008) Histological and histochemical methods, 4th ed. Bloxham: Scion Publishing Ltd.

TB-OT-X, V6, 15.02.2021., VR/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

