

VON KOSSA KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od pet reagensa za bojenje depozita kalcija i kalcijevih soli

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: VK-100T (za 100 testiranja) VK-K-100 (5 x 100 mL)

Uvod

Von Kossa komplet koristi se za vizualizaciju depozita kalcija i kalcijevih soli. Ioni srebra iz otopine srebrnog nitrata zamjenjuju karbonatne i fosfatne ione kalcija pri čemu, pod utjecajem jake svjetlosti, nastaje mikroskopski uočljiv srebrni sjaj. Tretiranje preparata litijevim karbonatom sprečava nastanak lažnog pozitivnog obojenja. Kontrastno obojenje se postiže Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom.

Opis proizvoda

VON KOSSA KOMPLET- Komplet od pet reagensa za bojenje depozita kalcija i kalcijevih soli.

Komplet sadrži:	100 testiranja (VK-100T)	5 x 100 mL (VK-K-100)	Temperatura skladištenja
Litijev karbonat, otopina	30 mL (LK-OT-30)	100 mL (LK-OT-100)	15-25°C
Srebro amonijev reagens	30 mL (SAR-OT-30)	100 mL (SAR-OT-100)	2-8°
Reducirajući pufer, otopina	30 mL (RP-OT-30)	100 mL (RP-OT-100)	15-25°C
Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina	30 mL (NT5-OT-30)	100 mL (NT5-OT-100)	15-25°C
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	30 mL (KR-OT-30)	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 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

UPOZORENJE:

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.)
- ne koristiti preparate fiksirane u fiksativima koji sadrže soli teških metala poput živinog klorida i kalijevog bikromata jer mogu izazvati lažno pozitivnu reakciju
- u postupku bojenja koriste se alkalne otopine koje mogu uzrokovati otpadanje preparata s predmetnog stakla. Preporučamo korištenje pozitivno nabijenih predmetnih stakala

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 (VK-100T)

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.	Tretirati Litijevim karbonatom, otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	10 minuta
6.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
7.	Tretirati Srebro amonijevim reagensom u zamračenom prostoru (nakapati ≥ 5 kapi)	60 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	4 izmjene
9.	Tretirati Reducirajućim puferom, otopinom do postizanja crne boje soli srebra (nakapati ≥ 5 kapi)	5 minuta ili više
10.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
11.	Tretirati Natrij tiosulfat, 5%-tnom otopinom (nakapati ≥ 5 kapi)	5 minuta
12.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
13.	Bojenje Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	5 minuta

14.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	2 minute
15.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
16.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
18.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
19.	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.

b) kompletom s pet reagensa od 100 mL (VK-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.	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.	Uroniti u Litijev karbonat, otopinu	10 minuta
6.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
7.	Uroniti u Srebro amonijev reagens u zamračenom prostoru	60 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	4 izmjene
9.	Uroniti u Reducirajući pufer, otopinu do postizanja crne boje soli srebra	5 minuta ili više
10.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
11.	Uroniti u Natrij tiosulfat, 5%-tnu otopinu	5 minuta
12.	Ispiranje u destiliranoj vodi	
13.	Uroniti u Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	5 minuta
14.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	2 minute
15.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
16.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
18.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
19.	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.

Rezultat

Kosti i depoziti kalcija – crna boja

Jezgre i citoplazme – ružičasto-crvena boja

Napomena

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

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzorka koristiti prikladne instrumente. Uzorke 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 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

Reagensi Von Kossa 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. Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.
2. Prophet, Mills, Arrington, Sobin (1968), Laboratory methods in histotechnology. Stain methods of the Arm Forces Institute of Pathology, Washington D.C.

VK-X, V7, 05.03.2019., 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	 Oprez lomljivo		

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

