

BIELSCHOWSKY KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od pet reagensa za bojenje živčanih stanica UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Bielschowsky komplet namijenjen je u histologiji za vizualizaciju živčanih stanica (dendrita i aksona), te u neuropatologiji i dijagnozi patoloških procesa kao što je Alzheimerova bolest tijekom koje neuroni tvore distinktivne strukture poznate pod nazivom senilni plakovi i neurofibrilarni čvorići. Metoda srebrne impregnacije po Bielschowskom omogućava bojenje neurona i aksona živčanog sustava prvo kroz impregnaciju u otopini srebrovog nitrata, potom kroz sekundarnu impregnaciju u srebro-amonijevoj otopini i naposljetku kroz redukciju srebrovih iona odnosno kroz taloženje elementarnog srebra na preparatu pomoću razvijaača koji sadrži formaldehid. Otopina natrijevog tiosulfata koristi se radi ispiranja i uklanjanja nevezanog srebra.

Opis proizvoda

- **BIELSCHOWSKY KOMPLET** - Komplet od pet reagensa za bojenje živčanih stanica.

Komplet sadrži:	100 testiranja (BLS-100T)	Temperatura skladištenja:
Srebrni nitrat, 20%-tna otopina	30 mL (SN20-OT-30)	2-8°C
Amonijeva voda	100 mL (AV-OT-100)	15-25°C
Stock otopina srebro amonijevog reagensa	10 mL (SSAR-OT-10)	2-8°C
Stock otopina razvijaača	5 mL (STR-OT-5)	15-25°C
Natrijev tiosulfat, 5% otopina	100 mL (NT5-OT-100)	15-25°C

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 dodirivati preparate ili biti u kontaktu s otopinama tijekom bojenja metalnim predmetima (škarice, pincete i sl.)
- prije korištenja sve reagense ugrijati na sobnu temperaturu (držati na sobnoj temperaturi barem dva sata prije početka bojenja)
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat

Priprema srebro amonijeve radne otopine:

Pomiješati 2 mL Stock otopine srebro amonijevog reagensa sa 14 mL demineralizirane vode. Pola volumena pripremljene radne otopine (8 mL) odvojiti i iskoristiti u kasnijem korak za pripremu radne otopine razvijaača.

NAPOMENA: srebro amonijevu radnu otopinu koristiti samo za jedno bojenje, a volumen prilagoditi broju preparata. Pripremljeni volumen od 8 mL dostatan je za obojenje otprilike 20 preparata, ukoliko se radna otopina nakapava na preparate.

Priprema radne otopine razvijaača:

U 8 mL prethodno pripremljene srebro amonijeve radne otopine dodati 16 kapi (otprilike 750 µL) Stock otopine razvijaača.

NAPOMENA: radnu otopinu razvijaača koristiti samo za jedno bojenje te nakon upotrebe baciti, a volumen prilagoditi broju preparata (8 mL radne otopine dovoljno je za otprilike 20 preparata).

Priprema histoloških preparata za bojanje

- Tkivni uzorak kvalitetno fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%, Bouinova otopina), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).
- Prosvijetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue).
- Parafinski blok narezati na 6-8 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost adhezivno predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

1.	Deparafinacija preparata u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 5 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 Srebrni nitrat, 20%-tnu otopinu (≥5 kapi), inkubirati u tami	20 minuta
6.	Nakapati srebro amonijevu radnu otopinu (≥5 kapi), inkubirati u tami	15 minuta
7.	Isprati Amonijevom vodom	nakapati pa ocijediti nekoliko puta
8.	Na preparate nakapati radnu otopinu razvijaača (≥5 kapi), inkubirati u tami Napomena: preparate makroskopski i mikroskopski provjeravati do željene boje; duljim tretiranjem, preparati postaju tamniji	2-3 minute
9.	Isprati Amonijevom vodom	dok se ne ispere višak reagensa
10.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	1 minuta
11.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 5%-tnu otopinu (≥5 kapi)	1 minuta
12.	Isprati pod tekućom vodovodnom vodom	
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
15.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 3 i 5 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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Živčani završeci, neurofibrili, neurofibrilarni čvorići, neuronski plakovi, jezgre – tamnosmeđa - crna boja
Pozadina – žuta - svijetlosmeđa boja

Napomena

Postupci bojenja u histologiji 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.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka 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 Bielschowsky 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. Bielschowsky, M. (1908): Eine Modifikation meines Silverimprägnationsverfahrens zur Darstellung der Neurofibrillen. *J für Psychologie Neurologie* 12:135–137
2. Crookham, J., Dapson, R. (1991): Hazardous Chemicals in the Histopathology Laboratory, 2nd ED, Anatech
3. Mirra, S.S., Hart, M.N., Terry, R.D. (1993): Making the Diagnosis of Alzheimer's Disease, *Arch Pathol Lab Med.* (117:132-144)

BLS-X, V1, 19.02.2021., 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		Za jednokratnu upotrebu		Broj serije		Proizvođač
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo		Vrijedi do		

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

