

LADEWIG TRICHROME KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Komplet od četiri reagensa za bojenje mišićnih i kolagenskih vlakana

UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI-DI	385889212HPC30708STARVF		
EMDN kód	W01030708		
REF Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj	
LDW-100T	za 100 testiranja	03858892123911	
LDW-K-100	4 x 100 mL	03858892124499	

Namjena proizvoda i načelo testiranja

Ladewig Trichrome komplet koristi se za bojenje histoloških preparata pri čemu je naglasak na kontrastno diferencijalno bojenje mišićnog tkiva i kolagenskog vlakna. Postupak bojenja je u usporedbi s drugim BioGnostovim Trichrome kompletima (Masson i Mallory) kraći i jednostavniji obzirom na to da inkubacija u samo jednom reagensu Ladewig istovremeno boji sve željene strukture. Ladewig reagens sadrži Aniline blue koji se veže za kolagen dajući mu karakteristično plavo obojenje, Acid Fuchsin koji crveno boji kontrastne strukture te Orange G koji služi za obojenje eritrocita.

Opis proizvoda

- **LADEWIG TRICHROME KOMPLET** - Komplet od četiri reagensa za bojenje mišićnih i kolagenskih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (LDW-100T)	4 x 100 mL (LDW-K-100)
Hematoksilin, Weigert A	30 mL (HEMA-OT-30)	100 mL (HEMA-OT-100)
Feri reagens, Weigert B	30 mL (FR-OT-30)	100 mL (FR-OT-100)
Fosfovolframova kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (FVK1-OT-30)	100 mL (FVK1-OT-100)
Ladewig reagens	30 mL (LDWR-OT-30)	100 mL (LDWR-OT-100)

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 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 New, BioMount C, BioMount Aqua
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE
- VitroGnost pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imerizaciju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema histoloških preparata za bojanje

- Uzorak 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).
- Prosvijetliti uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (BioWax Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue).
- 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 (LDW-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	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.	Nakapati 5 kapi Hematoksilina, Weigert A i 5 kapi Feri reagensa, Weigert B. Laganim njihanjem preparata promiješati reagense i pustiti da djeluje.	3-5 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom vodom	1 minuta
7.	Nakapati Fosfovolframovu kiselinu, 1%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	3 minute
8.	Kratko ispiranje u destiliranoj vodi	
9.	Bojenje Ladewig reagensom (nakapati reagens tako da u potpunosti prekrije histološki uzorak)	4 minute
10.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
11.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
12.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona

13.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
14.	Bistrenje u ksileni (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 četiri reagensa od 100 mL (LDW-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 ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	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.	Pripremiti radnu otopinu Weigert hematoksilina: pomiješati jednaki volumen Hematoksilina, Weigert A i Feri reagensa, Weigert B	
	Napomena: radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata	
6.	Uroniti u radnu otopinu Weigert hematoksilina i pustiti da djeluje	3-5 minuta
7.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	1 minuta
8.	Uroniti u 1%-tnu otopinu fosfovolframove kiseline	3 minute
9.	Kratko ispiranje u destiliranoj vodi	
10.	Uroniti u Ladewig reagens	4 minute
11.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
12.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
15.	Bistrenje u ksileni (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

Citoplazme - crvena boja

Jezgre – smeđa do crna boja

Mišićna vlakna – smeđa do crvena boja

Kolagen – plava do ljubičasta boja

Eritrociti – narančasta boja

Napomena

Postupci bojenja 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. Ukoliko tijekom upotrebe ovog proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom nacionalnom tijelu.

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

Ladewig Trichrome komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Gray, Peter (1954). *The Microtome's Formulary and Guide*.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu		
	H225	Lako zapaljiva tekućina i para.
	H315	Nadražuje kožu.
	H317	Može izazvati alergijsku reakciju na koži.
	H319	Uzrokuje jako nadraživanje oka.
	H341	Sumnja na moguća genetska oštećenja.
	H351	Sumnja na moguće uzrokovanje raka.
	P210	Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.
	P280	Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
	P302 + P352	U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom vode/...
	P303 + P361 + P353	U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom [ili tuširanjem].
	P305 + P351 + P338	U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.
	P308 + P313	U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/pomoć liječnika.
	P333 + P313	U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

LDW-X, V3, 06.03.2024., VR/IŠP

	Europska sukladnost		Temperaturno ograničenje		Kataloški broj		Vrijedi do
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od sunčevog svjetla		Broj serije		Čuvati na suhom
	Proizvođač		Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Jedinstvena identifikacija proizvoda		Datum proizvodnje

 **BioGnost d.o.o.**
Medugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.biognost.com

