

# SAFRANIN O KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od četiri reagensa za primjenu u histologiji i citologiji. Koristi se za detekciju hrskavice, mucina i granula mastocita

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: SAFO-100T (za 100 testiranja) SAFO-K-100 (4 x 100 mL)

#### Uvod

Safranin O komplet koristi se za vizualizaciju i bojenje hrskavice, mucina i mastocita na tkivima fiksiranim u formalinu i uklopljenim u parafin, ali i na smrznutim tkivnim prerezima. Sadrži Safranin O boju koja se koristi u histologiji i citologiji kao crvena kontrastna boja za jezgre. Često se Safranin O boja koristi i za otkrivanje hondrocita poteklih od mezenhimalnih matičnih stanica ljudskog porijekla i porijeklom od glodavaca. Fast Green F.C.F. boja pozadinske strukture stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast. Opcionalno može se koristiti ErioGnost reagens kojim se postiže selektivno bojenje jezgara tamnijom nijansom nego što se to postiže korištenjem samog Safranin O reagensa.

#### Opis proizvoda

**SAFRANIN O KOMPLET** - Komplet za bojenje hrskavice, mucina i mastocita.

Komplet sadrži:	100 testiranja (SAFO-100T)	4 x 100 mL (SAFO-K-100)
ErioGnost reagens	30 mL (ERS-OT-30)	100 mL (ERS-OT-100)
Fast Green F.C.F. kontrast reagens	30 mL (FGKR-OT-30)	100 mL (FGKR-OT-100)
Octena kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (OK1-OT-30)	100 mL (OK1-OT-100)
Safranin O reagens	30 mL (SAFO-OT-30)	100 mL (SAFO-OT-100)

#### Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni u metodi:

- 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 njegova supstituta na bazi alifatskih ugljikovodika poput BioClear New sredstva
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- Predmetna stakla za primjenu u histologiji, patologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za umerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipa A i C

#### 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 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 (SAFO-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
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 izmjene u trajanju od 2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.*	Bojenje ErioGnost reagensom (nakapati ≥5 kapi)	5 minuta
6.*	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	4 minute
7.	Bojiti Fast Green F.C.F. kontrast reagensom (nakapati ≥5 kapi)	2 minute
8.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi Napomena: za slabije kontrastno obojenje ovaj korak se može produžiti	10 sekundi
9.	Tretirati octenom kiselinom, 1% otopina (nakapati ≥5 kapi)	10 sekundi
10.	Bojiti Safranin O reagensom (nakapati ≥5 kapi)	5 minuta
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
13.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

\* Ukoliko nije potrebno tamnije obojenje jezgara, ove korake je moguće preskočiti

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 sa četiri reagensa od 100 (SAFO-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 minute
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 izmjene u trajanju od 2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.*	Uroniti u ErioGnost reagens	5 minuta
6.*	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	4 minute
7.	Uroniti u Fast Green F.C.F. kontrast reagens	2 minute
8.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi Napomena: za slabije kontrastno obojenje ovaj korak se može produžiti	10 sekundi
9.	Uroniti u octenu kiselinu, 1% otopina	10 sekundi
10.	Bez ispiranja uroniti u Safranin O reagens	5 minuta
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
13.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

\* Ukoliko nije potrebno tamnije obojenje jezgara, ove korake je moguće preskočiti

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

Jezgre – tamnoplave (crvene kad se ne koristi ErioGnost reagens)  
Hrskavica, mucini, mastociti – od narančaste do crvene boje  
Pozadina – zelena boja

#### Napomena

Postupci bojenja u mikrobiologiji 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 uzoraka i njihovu pripremu koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti proizvođačevu uputu za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka i postavljanja dijagnoze mogu provoditi 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

Safranin O komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na +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

- Carson, F. L., Hladik, C. (2009): *Histotechnology: A Self-Instructional Text*, 3<sup>rd</sup> ed., Chicago: ASCP Press
- Kiernan, J. A. (2008): *Histological and Histochemical Methods*, 4<sup>th</sup> ed., Bloxham: Scion Publishing Ltd

SAFO-X, V2, 12.08.2021., SK/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

