

P.A.S.M. / JONES KOMPLET, STABILIZIRANI

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Periodic-Acid-Silver-Methenamine komplet za bojenje argentafilnih struktura i bubrežnih membrana

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: PASM-100T (za 100 testiranja) PASM-K-100 (za 300-350 testiranja)

Uvod

P.A.S.M. / Jones komplet koristi se u histologiji za vizualizaciju argentafilnih struktura, pogotovo bubrežnih membrana, ali i gljivica te određenih patogenih organizama. Postupak bojenja počinje otopinom perjodne kiseline kojom se 1,2-glikoli oksidiraju do aldehida. Tijekom inkubacije u srebro-metenamin-boratoj radnoj otopini, aldehidi se reduciraju te istovremeno uzrokuju redukciju srebrnih iona do metalnog srebra, koje će se na preparatu pojaviti kao smeđe do crno obojene strukture. Slijedi toniranje preparata otopinom zlatnog klorida koje dodatno pojačava obojenost ciljnih struktura (bazalnih membrana, gljivica i sl.) te smanjuje pozadinsko obojenje. Ispiranjem preparata otopinom natrijevog tiosulfata uklanja se višak nevezanih srebro-zlata spojeva. Na kraju se preparati izlažu Nuclear Fast Red (Kernechtrot) kontrastnoj boji koja oboji pozadinske strukture crveno stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast smeđe-crno obojenim ciljnim strukturama.

Opis proizvoda

• **P.A.S.M. / JONES KOMPLET, STABILIZIRANI** - Komplet od sedam reagensa za bojenje argentafilnih struktura i bubrežnih membrana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (PASM-100T)	300-350 testiranja (PASM-K-100)
Perjodna kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (PK1-OT-30)	100 mL (PK1-OT-100)
Srebrni nitrat, stabilizirana otopina	3 x 100 mL (SNS-OT-100)	2 x 500 mL (SNS-OT-500)
Metenamin, otopina	50 mL (MET-OT-50)	2 x 100 mL (MET-OT-100)
Boraks, otopina	35 mL (BO-OT-35)	105 mL (BO-OT-105)
Zlatni klorid, 0.6%-tna otopina	30 mL (ZK06-OT-30)	100 mL (ZK06-OT-100)
Natrijev tiosulfat, 2%-tna otopina	30 mL (NT2-OT-30)	100 mL (NT2-OT-100)
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	30 mL (KR-OT-30)	100 mL (KR-OT-100)

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
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat

Priprema srebro-metenamin-boradne radne otopine:

a) volumena 40 ml (optimalno za Coplin posudu):

U posudu dodati 15 mL dvostruko destilirane (demi) vode, 3 mL Metenamina, otopine i 2 mL Boraksa, otopine. Zatim dodati 20 mL Srebrnog nitrata, stabilizirane otopine i promiješati staklenim štapićem.

b) volumena 80 ml (optimalno za Hellendahl posudu):

U posudu dodati 30 mL dvostruko destilirane (demi) vode, 6 mL Metenamina, otopine i 4 mL Boraksa, otopine. Zatim dodati 40 mL Srebrnog nitrata, stabilizirane otopine otopine i promiješati staklenim štapićem.

NAPOMENA: srebro-metenamin-boradnu radnu otopinu koristiti samo za jedno bojenje te nakon upotrebe baciti

Priprema histoloških preparata za bojanje

- 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, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

1.	Deparafinacija preparata u ksilenom (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 3 i 2 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Nakapati Perjodnu kiselinu, 1%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	11 minuta
	Napomena: za oksidaciju gljivica smanjiti inkubaciju	5 minuta
6.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
7.	Svježe pripremiti srebro-metenamin-boradnu radnu otopinu i inkubirati s preparatima na	30-35 minuta za bojenje bazalnih

	+56°C u vodenoj kupelji. Prema potrebi mikroskopski provjeravati obojenje preparata.	membrana
	Napomena: za bojenje gljivica inkubirati 20 minuta pa vizualno provjeravati do željenog intenziteta obojenja (gljivice poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini)	20-25 minuta za bojenje gljivica
8.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
9.	Nakapati Zlatni klorid, 0,6%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	30 sekundi
	Napomena: dulje izlaganje otopini Zlatnog klorida, 0.6% pomiče nijansu obojenja membrana od crne prema sivoj boji	
10.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
11.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 2%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	2 minute
12.	Dobro isprati pod tekućom vodovodnom vodom	2 minute
13.	Nakapati Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens (≥ 5 kapi)	5-10 minuta
	Napomena: ovisno o osobnim zahtjevima umjesto Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensa za kontrastno bojenje moguće je koristiti bojenje otopinama Hematoksilina i Eozina koje laboratorij već ima i koristi u rutinskom radu	
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
15.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
16.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
18.	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

Bazalne membrane, glikogen, bakterije i gljivice - smeđa do crna boja

Pozadina – ružičasta 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

P.A.S.M. / Jones 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

1. Bancroft, J.D., Gamble, M. Livingstone, C. Theory and practice of Histological Techniques – 5^a edizione 2002.
2. Grocott. A Stain for fungi in tissue section and smears. Am J Pathol. 1955; 25:975.
3. Koski, J.P. (1981): Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol. 4; str. 115.
4. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U., Ermes, E. Tecniche in anatomia patologica. 1989.

PASM-X, V12, 25.05.2022., 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

