

LITIJEV KARBONAT, OTOPINA

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod **CE**
Za primjenu u Von Kossa kompletu

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: LK-OT-100 (100 mL)

Uvod

Litijev karbonat, otopina sastavni je dio Von Kossa kompleta koji se koristi 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 otopinom litijeva karbonata sprečava nastanak lažnog pozitivnog obojenja. Kontrastno obojenje se postiže Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom.

Opis proizvoda

- LITIJEV KARBONAT, OTOPINA** – vodena otopina litijevog karbonata

Primjer primjene Litijevog karbonata, otopina u Von Kossa kompletu

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
- 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
- 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
- BioGnostova sredstva za umerizaciju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Ostale komponente Von Kossa kompleta: Srebro amonijev reagens (SAR-OT-100), Reducirajući pufer, otopina (RP-OT-100), Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina (NT5-OT-100) i Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens (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 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).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitoGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

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.	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 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

Litijski karbonat, otopinu 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. (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 Armed Forces Institute of Pathology, Washington D.C.

LK-OT-100, V1, 31.10.2023., 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		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

