

ERIOGNOST REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Acidorezistentan reagens za bojenje jezgri, usporedivo s hematoksilin reagensima UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: ERS-OT-100 mL (100 mL) ERS-OT-500 mL (500 mL) ERS-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Eriokrom Cijanin R spada u grupu anionskih sulfonftaleinskih mordantskih boja. Može se koristiti samostalno kao pH indikator ili kao crvena anionska boja, međutim kako s ionima metala (poput iona željeza) gradi intenzivno obojene komplekse, ova se boja u histologiji najviše primjenjuje kao zamjena za hematoksilin. Eriokrom predstavlja ekonomičnu i ekološki prihvatljivu sintetičku zamjenu za hematoksilin, a njegove otopine pokazuju superiornu stabilnost u odnosu na otopine hematoksilina. Za bojenje se koristi mješavina Eriokrom Cijanin R boje i mordanta željeza (Fe). Naime, eriokrom i feri ioni grade četiri različita kompleksa, od kojih su dva crvena i dva plava. Ukoliko se otopine ove boje koriste pod odgovarajućim uvjetima može se dobiti selektivno bojenje jezgri nalik na rezultate bojenja hematoksilinom. Ova metoda kompatibilna je s uobičajenim kontrastnim bojenjem eozinom kao zamjena za hematoksilin-eozin bojenje, ali koristi se i u specijalnim kompletima poput: A.F.O.G., Gomori Trichrome, Masson-Goldner Trichrome, Masson Trichrome, Picro Sirius Red, Safranin O i Mucicarmine.

Opis proizvoda

- **ERIOGNOST REAGENS** - reagens za nuklearno bojenje u histopatologiji. Sadrži mordant željezo i Eriokrom Cijanin R boju u prahu

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrebljeni 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, BioWax Micro
- 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 C, BioMount Aqua
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imerizaciju poput Imerzijskog ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Reagensi za kontrastno bojenje poput BioGnostovih otopina eozina
- Reagensi za kontrastno bojenje (iz BioGnostovih specijalnih kompleta)

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).
- Prosvjetliti uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak 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.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja histoloških preparata:

a) u kombinaciji s otopinom eozina (alternativa za HE bojenje)

1.	Deparafinacija 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 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje ErioGnost reagensom	5 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom vodom do prestanka otpuštanja boje s preparata	2 izmjene u trajanju od 15 sekundi
7.	Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina uroniti preparate u 95%-tni alkohol (Histanol 95). Ukoliko se koristi vodena otopina eozina ovaj korak preskočiti	
8.	Bojenje jednom od kontrastnih otopina eozina do optimalnog obojenja preparata	15 sekundi - 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute	
9.	Ispiranje pod tekućom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	2 minute
10.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
11.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
12.	Bistrenje u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
13.	Pogledati Napomenu - prekrivanje	

b) dikromatsko bojenje ErioGnost reagensom

1.	Deparafinacija 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 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje ErioGnost reagensom	5 minuta
6.	Isprati u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	2 izmjene u trajanju od 15 sekundi
	Napomena: pH destilirane/demineralizirane vode mora biti 5,0-5,5	
7.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
8.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona

9.	Bistrenje u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
10.	Pogledati Napomenu - prekrivanje	

c) s reagensima specijalnih kompletima kao zamjena hematoksilin reagensu

1.	Deparafinacija u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 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.	Uroniti ili nakapati ErioGnost reagens	5 - 15 minuta
	Napomena: za jače obojene jezgre inkubirati preparate 15 minuta u ErioGnost reagensu	
6.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 - 10 minuta
	Napomena: duljina ispiranja definirana je u specijalnom kompletu	
7.	Bojenje kontrastnim reagensom (ovisno o tipu kompleta specijalnih boja koja se primjenjuje)	
8.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
9.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
10.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
11.	Bistrenje u ksileni (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
12.	Pogledati Napomenu - prekrivanje	

Napomena - prekrivanje

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

Postupak bojenja Vrsta tkiva	A - u kombinaciji s otopinom eozina (alternativa za HE bojenje)	B - dikromatsko bojenje ErioGnost reagensom	C - s reagensima specijalnih kompletima kao zamjena hematoksilin reagensu
Jezgre	plava boja	plava do ljubičasta boja	smeđe do plava boja
Citoplazma, kolagen, mišićna vlakna, eritrociti	nijanse ružičaste boje	mišićna vlakna i kolagen - narančasto crvena do ljubičasta boja eritrociti - crvena boja	ovisno o vrsti kontrastnih otopina; pogledati u Uputi za rukovanje specijalnog kompleta

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.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja 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

ErioGnost reagens čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Clark G. (1979): Staining With Chromoxane Cyanine R, Stain Technol. 54,337-344.
- Chapman, D. M. (1977): Eriochrome cyanine as a substitute for hematoxylin and eosin, Canad. J. Med.
- Kiernan, J.A. (1984): Chromoxane cyanine R. I. Physical and chemical properties of the dye and of some of its iron complexes, J. Microsc. 134, 13-23.

ERS-OT-X, V2, 10.11.2021., KB/IŠP

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Opazuj lomljivo

	Kataloški broj
	Broj serije

	Europska sukladnost
	Proizvođač

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

