

FORMALDEHID 4%-TNI, ALKOHOLNA OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu kod bojenja u Retikulin i Retikulin kontrast kompletima

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: F4A-OT-100 (100 mL)

Uvod

Formaldehid 4%-tni, alkoholna otopina sastavni je dio specijalnih kompleta kao što su Retikulin i Retikulin kontrast. Retikulin kontrast komplet služi za dokazivanje argentafilnih retikulinskih vlakana u vezivnom tkivu. Retikulin ima potpurnu funkciju u tijelu te se nalazi u jetri, slezeni i bubrezima. Kod zdrave jetre, retikulinska vlakna su jasno definirana, dok su kod nekrotične i cirozne jetra isprekidana. Princip testa temelji se na taloženju srebra na retikulinska vlakna. Tkivni uzorak potrebno je najprije oksidirati kalijevim permanganatom. Srebro se formira iz amonijeve otopine sa srebrnim nitratom te se taloži u obliku smeđeg taloga na retikulinska vlakna. Formalin, koji ima ulogu reducensa, ubrzava cijeli postupak. Pomoću natrijevog tiosulfata ispire se i uklanja nevezano srebro. Retikulin kontrast komplet sadrži i otopinu zlatnog klorida koji ujedno stabilizira i tonira sliku preparata. Unutar Retikulin kontrast kompleta nalazi se i kontrastna boja, Nuclear Fast Red (Kernechtrot).

Opis proizvoda

- **FORMALDEHID 4%-TNI, ALKOHOLNA OTOPINA** – alkoholna otopina paraformaldehida.

Primjer primjene Formaldehida 4%-tni, alkoholna otopina kao komponente Retikulin kontrast kompleta

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, BioWax Micro
- 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
- Ostale komponente Retikulin kontrast kompleta: Kalijev permanganat, 0.5%-tna otopina (KP05-OT-100), Sumporna kiselina, 3%-tna otopina (SK3-OT-100), Oksalna kiselina, 1%-tna otopina (OKS1-OT-100), Amonij željezo sulfat (ASF-OT-100), Srebro amonijeve otopina (SA-OT-100), Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina (NT5-OT-100), Zlatni klorid, 0,2%-tna otopina (ZK02-OT-100), Nuclear fast red (Kernechtrot) reagens (KR-OT-100).

NAPOMENA

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.)
- nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat
- ukoliko dođe do pojave taloga u reagensu *Amonij željezo sulfat, otopina*, istu je potrebno filtrirati (talog ne utječe na kvalitetu bojenja)

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.

Postupak bojenja histoloških preparata Retikulin kontrast kompletom od devet reagensa od 100 mL (RET-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 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.	Pripremiti radnu otopinu: pomiješati jednaki volumen otopine kalijeva permanganata i otopine sumporne kiseline. Napomena: Uvijek pripremiti svježu radnu otopinu.	
6.	Uroniti preparat u radnu otopinu i pustiti da djeluje	5 minuta
7.	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
8.	Uroniti u 1%-tnu otopinu oksalne kiseline	1 minuta
9.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
10.	Uroniti u Amonij željezo sulfat, otopinu	3 minute
11.	Dvaput isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
12.	Uroniti u Srebro amonijeve otopinu	3 minute

13.	Isprati u desiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
14.	Uroniti u Formaldehid 4%, alkoholnu otopinu	5 minuta
15.	Dvapat isprati u destiliranoj (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
16.	Uroniti u Zlatni klorid, 0,2%-tnu otopinu	2 minute
17.	Isprati u destiliranoj vodi (demi) vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
18.	Uroniti u Natrijev tiosulfat, 5%-tnu otopinu	2 minute
19.	Ispirati u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak reagensa s preparata
20.	Uroniti u Nuclear Fast Red (Kernecht) reagens	5 minuta
21.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
22.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
23.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
24.	Bistrenje u ksilenu (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

Retikularna i živčana vlakna – tamnoljubičasta do crna boja
 Jezgre – ružičasta do crvena boja
 Kolagen – oker do smeđe-crna boja
 Pozadina – nježno ružičasta boja

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

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

Formaldehid 4%, alkoholnu otopinu čuvati na temperaturi od +15 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

- Gomori, G. (1939): The effect of certain factors on result of silver impregnation for Reticulum fibers, Am. J. Path. , 15: 493-495
- Gordon et Sweet, H. (1936): A rapid method for silver impregnation of reticulum, Am. J. Path., 12: 545-551

F4A-X, V1, 27.04.2020., KB/ŠP

 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

