

# KOLOIDNO ŽELJEZO, STOCK OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Za primjenu kod bojenja u Koloidno željezo kompletu

### UPUTA ZA RUKOVANJE

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

#### Uvod

Koloidno željezo komplet koristi se za vizualizaciju karboksiliranih i sulfatiziranih skupina kiselih mucina i proteoglikana. Ova metoda se temelji na principu vezanja pozitivno nabijenih željezovih iona ( $Fe^{3+}$ ) na negativno nabijene završetke kiselih mukopolisaharida i proteoglikana. Višak reagensa se ispire, dok se vezani ioni željeza vizualiziraju Prussian Blue reakcijom, gdje se kalijevim ferocijanidom dobiju svijetlo plave naslage željezovog ferocijanida. Na kraju se preparati izlažu Van Gieson boji koja selektivno boji različite tkivne strukture stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast. Ova metoda se može kombinirati sa P.A.S. metodom čime bi se glikogen i neutralni mukopolisaharidi diferencijalno obojili u karakterističnu purpurnu (magenta) boju.

#### Opis proizvoda

- KOLOIDNO ŽELJEZO, STOCK OTOPINA** – vodena otopina Željezov klorida heksahidrata

#### 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 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 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 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 imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostovi reagensi koji čine Koloidno željezo komplet: Octena kiselina, Koloidno željezo (A) otopina (OKA-OT-250), Octena kiselina, Koloidno željezo (B) otopina (OKB-OT-30), Kalijev heksacijanoferat, Koloidno željezo otopina (KHCK-OT-30), HCl reagens, Koloidno željezo (HCLK-OT-30) i Fuchsin Acid Van Gieson reagens (FAG-OT-30)

#### 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 uzoraka

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 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Isprati u Octenoj kiselini, Koloidno željezo (A) otopini	30 sekundi
6.	Nakapati $\geq 15$ kapi Octene kiseline, Koloidno željezo (B) otopine, i $\geq 5$ kapi Koloidno željezo, štok otopine. Lagano pomiješati. Napomena: Otopinu koristiti svježu, a potom baciti.	30 minuta
	Pažljivo isprati radnu otopinu Octenoj kiselini, Koloidno željezo (A) otopini	
7.	Isprati preparat u Octenoj kiselini, Koloidno željezo (A) otopini	3 izmjene u trajanju od 3 minute
8.	Nakapati $\geq 5$ kapi Kalijev heksacijanoferata, Koloidno željezo otopinu i $\geq 5$ kapi HCL reagensa, Koloidno željezo. Napomena: Otopinu koristiti svježu, a potom baciti.	20 minuta
9.	Isprati u destiliranoj vodi	3 izmjene u trajanju od 5 sekundi
10.	Bojenje Fuchsin Acid Van Gieson reagensom (nakapati $\geq 5$ kapi) Napomena: dužim izlaganjem, preparati poprimaju intenzivniju crvenu boju.	5-10 sekundi
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 5 urona
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

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.

\* Da bi se izbjeglo blijeđenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX/BioMount DPX New sredstvom.

## 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.

## Rezultat

Plava boja – kiseli mucini

Nijanse crvene boje – kolagen

Žuta boja – mišićno tkivo, citoplazma, eritrociti, glijta vlakna

## 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

Koloidno željezo komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi +15 °C do +25 °C. 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, 6<sup>th</sup> ed., Churchill Livingstone
2. Culling C.F.A., et all (1985): Cellular Pathology Technique, 4th ed., Butterworth-Heinemann
3. Mowry, R.W. (1963): The special value of methods that color both acidic and vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of mucins. With revised directions for the colloidal iron stain, the use of alcian blue g8x and their combinations with the periodic acid-schiff reaction, Ann NY Acad Sci , 106(2)
4. Niito Y., Stokes J.R. (1960) An improved colloidal iron staining reagent, Stain Technol, 103(35)

KOL-X, V1, 30.08.2022., 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	 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

