

NATRIJEV TIOSULFAT, 2% OTOPINA

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu u specijalnim kompletima UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: NT2-OT-100 (100 mL)

Uvod

Natrijev tiosulfat, 2% otopina sastavni je dio specijalnih kompleta kao što su Grocott komplet, stabilizirani, P.A.S.M. Jones komplet, stabilizirani kao i Feulgen komplet. Grocott komplet i P.A.S.M. Jones komplet koriste se za vizualizaciju argentafilnih struktura u histologiji. U dijagnostičke svrhe najčešće se koristi za impregnaciju bazalnih membrana i gljivica srebrom. Tretiranje preparata otopinom perjodne kiseline 1,2-glikoli se oksidiraju do aldehida. Tijekom inkubacije u srebro-metenamin-boratom radnoj otopini, aldehidi se reduciraju do primarnih alkohola uz simultanu redukciju iona srebra do elementarnog srebra (tamnosmeđe-crne boje). Slijedi toniranje preparata otopinom zlatnog klorida koje pojačava obojenost ciljnih struktura, te uklanja nespecifično obojenje. Ispiranjem preparata otopinom natrijevog tiosulfata uklanja se višak nevezanih srebro-zlata spojeva. Na kraju se preparati izlažu Fast Green F.C.F. boji (Grocott komplet, stabilizirani) ili Nuclear Fast Red boji (P.A.S.M. Jones komplet, stabilizirani) koja pozadinske strukture boji zeleno odnosno crveno stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast smeđe do crno obojenim ciljnim strukturama. Feulgen komplet koristi se kao citokemijska metoda za semikvantitativno određivanje DNA u histološkim i citološkim uzorcima.

Opis proizvoda

- NATRIJEV TIOSULFAT, 2% OTOPINA – Vodena otopina natrijevog tiosulfata

Primjer primjene Natrijevog sulfata, 2% otopina u Grocott kompletu, stabilizirani

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 uklopavanje 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 Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- 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 Grocott kompleta, stabiliziranog: Perjodna kiselina, 1%-tna otopina (PK1-OT-100), Metenamin, otopina (MET-OT-100), Boraks, otopina BO-OT-105, Zlatni klorid, 0.6%-tna otopina (ZK06-OT-100), Srebrov nitrat, stabilizirani (SNS-OT-100), Fast Green F.C.F. kontrast reagens (FGKR-OT-100)

UPOZORENJE:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu visoke čistoće **bez** imalo klora (električne provodljivosti < 5,5 μ S)
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dodirivati preparate ili otopine metalnim predmetima (metalne žlice, pincete i sl.) tijekom bojenja
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat
- reagense čuvati na sobnoj temperaturi (od +15 °C do +25°C). Na nižoj temperaturi može doći do taloženja u reagensima i neučinkovitog bojenja

Priprema srebro-metenamin-boratom 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 i promiješati staklenim štapićem.

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

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 Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok rezati na 1-3 μ m tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo, preporučljivo na adhezivno predmetno staklo (VitroGnost Plus Ultra, VitroGnost PLL, VitroGnost SIL, VitroGnost Super Frost Plus)

Postupak bojenja uzorka

1.	Deparafinacija preparata 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 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 minuta za oksidaciju gljivica
	Napomena: za oksidaciju bazalne membrane produžiti inkubaciju	11 minuta
6.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi

7.	Svježe pripremiti srebro-metenamin-boratu radnu otopinu i inkubirati s preparatima na +56°C u vodenoj kupelji. Prema potrebi mikroskopski provjeravati obojenje preparata.	20-25 minuta za bojenje glijivica
	Napomena: za bojenje bazalne membrane inkubirati 30 minuta pa vizualno provjeravati do željenog intenziteta obojenja (bazalne membrane poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini)	30-35 minuta
8.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
9.	Nakapati Zlatni klorid, 0.6%-tnu otopinu	30-60 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	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
11.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 2%-tnu otopinu	2 minute
12.	Isprati pod indirektnim mlazom tekuće vodovodne vode	2 minute
13.	Nakapati Fast Green F.C.F. kontrast reagens	2-3 minute
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 ksileni (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

Bazalne membrane, glikogen, bakterije i glijivice – smeđa do crna boja
Pozadina – zelena boja

Napomena

Postupci bojenja u histologiji nisu standardizirani i ovisi 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 uzorka 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

Natrijev tiosulfat, 2% otopina, 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^o edizione 2002.
2. Grocott. A Stain for fungi in tissue section and smears. Am J Pathol. 1955; 25:975.
3. Jones, D.B. (1957): Nephrotic Glomerulonephritis, Am J Pathol. Apr; 33(2): 313–329
4. Koski, J.P. (1981): Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol. 4; str. 115.
5. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U., Ermes, E. Technique in anatomia patologica. 1989.

NT2-OT-100, V1, 16.01.2023, 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	 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

