

PIKRINSKA KISELINA U ACETONU, OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu u H.B.F.P. kompletu

UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Pikrinska kiselina u acetonu, otopina sastavni je dio H.B.F.P. kompleta koji služi za prikaz rane promjene na srčanom mišiću proistekle nakon ishemije ili infarkta miokarda. Histološka dijagnoza rane faze ishemije ili infarkta miokarda klasičnim hematoksilin-eozin histološkim metodama i svjetlosnim mikroskopom izuzetno je delikatna. Razlog tome su minimalne histopatološke promjene koje nastaju na srčanom mišiću u prvih 6 sata od početka simptoma. Ipak, bojenjem preparata kombinacijom boja u kojima se nalaze hematoksilin, bazični fuksin i pikrinska kiselina moguće je histološki prikazati rane promjene na srčanom mišiću.

Opis proizvoda

- PIKRINSKA KISELINA U ACETONU, OTOPINA – Otopina pikrinske kiseline u acetonu

Primjer primjene Pikrinske kiseline u acetonu, otopina u H.B.F.P. 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, 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 umeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Ostale komponente H.B.F.P. kompleta: Hematoksilin ML (HEMML-OT-100) i Fuchsin Basic, otopina (FBO-OT-100)

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 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue).
- 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 uzorka

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.	Uroniti u Hematoksilin ML	5 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom, vodovodnom vodom	3 minute
7.	Uroniti u Fuchsin Basic otopinu	3 minute
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Oprati preparat u apsolutnom alkoholu (Histanol 100)	
10.	Diferencirati preparat uranjanjem u otopinu pikrinske kiseline u acetonu	15-20 sekundi
	Napomena: Tijekom faze diferencijacije otopinom pikrinske kiseline u acetonu važno je mikroskopske preparate tretirati individualno i pažljivo svježim nekontaminiranim reagensima. Diferencijacija je završena u trenutku kada eritrociti, kolageno tkivo i ishemični mišić ostanu grimizno crveni, a ostalo tkivo bude žuto. Ukoliko se ti parametri pažljivo ne monitoriraju može doći do lažno pozitivnog ili lažno negativnog izgleda preparata. Dekolorizacija eritrocita je pri tome najosjetljiviji kriterij.	
11.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	tri izmjene u trajanju od 2 minute
12.	Oprati preparat u apsolutnom acetonu	
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 blijedenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX ili BioMount DPX New sredstvom.

Rezultat

Ishemični srčani mišić, eritrociti i kolageno tkivo - grimizno crvena boja

Jezgre - plava boja

Ostala tkiva i strukture - žuta boja

Napomena

Rezultate očitati unutar par sati od završetka bojenja, budući da s vremenom intenzitet boje blijedi te se povećava mogućnost pogrešnog očitavanja rezultata. Vremenski periodi postupka bojenja nisu standardizirani. 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 najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti 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. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

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 dostupnim na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Pikrinsku kiselinu u acetonu, 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

- Lie JT et al. (1971): New histochemical method for morphologic diagnosis of early stages of myocardial ischemia. *Mayo Clin Proc*, 46:319-27.
- HK Al-Rufai et al. (1983): Comparison of the haematoxylin basic fuchsin picric acid method and the fluorescence of haematoxylin and eosin stained sections for the identification of early myocardial infarction. *J Clin Pathol*, 36: 646-649

PKA-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	 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

