

ALCIAN BLUE-P.A.S. KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Alcian Blue – Periodic Acid-Schiff komplet za dokazivanje kiselih mukopolisaharida prema Mowryju

UPUTA ZA RUKOVANJE



OSNOVNI UDI broj	385889212HPC30708STARVF		
EMDN kód	W01030708		
REF	Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj
AB-100T		za 100 testiranja	03858890000528
AB-K-100		7 x 100 mL	0385888822347
AB-K-500		7 x 500 mL	03858890005691

Namjena proizvoda i načelo testiranja

Jedna od najčešće korištenih kemijskih metoda u histologiji je P.A.S. bojenje. U kombinaciji s Alcian Blue pH 2,5 otopinom na jednom preparatu moguće je diferencirati neutralne i kisele mucine, glikogen i glikoproteine. Alcian Blue boja boji kisele mucine koji postanu netopivi i otporni na preostale reagense P.A.S. postupka bojenja. Oksidirajuće djelovanje perijodne kiseline omogućuje karakteristično purpurno (magenta) obojenje u kombinaciji sa BioSchiff reagensom. Jezgre se oboje Hematoksilinom ML (Mayer-Lillie) koji ne interferira s Alcian Blue bojom.

Opis proizvoda

- ALCIAN BLUE-P.A.S. KOMPLET** – Komplet za bojenje neutralnih i kiselih mucina te glikogena i glikoproteina

Komplet sadrži:	100 testiranja (AB-100T)	7 x 100 mL (AB-K-100)	7 x 500 mL (AB-K-500)	Temperatura pohrane
Alcian Blue otopina pH 2,5	30 mL (AB2-OT-30)	100 mL (AB2-OT-100)	500 mL (AB2-OT-500)	15-25 °C
Natrijev tetraborat, otopina	30 mL (NTB-OT-30)	100 mL (NTB-OT-100)	500 mL (NTB-OT-500)	15-25 °C
Perijodna kiselina, 0,8%-tna otopina	30 mL (PK08-OT-30)	100 mL (PK08-OT-100)	500 mL (PK08-OT-500)	15-25 °C
BioSchiff reagens	30 mL (BS-OT-30)	100 mL (BS-OT-100)	500 mL (BS-OT-500)	15-25 °C do otvaranja, 2-8 °C nakon otvaranja
Natrijev metabisulfit, otopina	30 mL (NM-OT-30)	100 mL (NM-OT-100)	500 mL (NM-OT-500)	15-25 °C
HCL reagens, P.A.S.	30 mL (HCLP-OT-30)	100 mL (HCLP-OT-100)	500 mL (HCLP-OT-500)	15-25 °C
Hematoksilin ML	30 mL (HEMML-OT-30)	100 mL (HEMML-OT-100)	500 mL (HEMML-OT-500)	15-25 °C

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- 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 bistrenje poput BioClear ksilena ili BioClear New supstituta ksilena na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i ukupanje 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 DPX New, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost predmetna i pokrovna stakla za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkivni uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%) i procesirati
- Ukloniti tkivo u parafinski blok (BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue)
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

Priprema dodatne otopine potrebne u postupku bojenja

- Sulfitna otopina
Napomena: sulfitnu otopinu napraviti netom prije korištenja!
a) volumen dovoljan za 1 preparat:
U manjoj epruveti pomiješati: 1 kap Natrij metabisulfit, otopine, 1 kap HCL reagensa, P.A.S i 1 mL vodovodne vode. Pomiješati.
b) volumen dovoljan za Hellendahl posudicu (otprilike 80 mL):
Pomiješati 3,75 mL Natrij metabisulfit, otopine s 3,75 mL HCL reagensa, P.A.S. Otopini potom dodati još 75 mL vodovodne vode, pomiješati.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (AB-100T)

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/demineraliziranoj vodi	2 minute
5.	Bojenje Alcian Blue otopinom pH 2,5	30 minuta
6.	Nagnuti preparat te ukloniti Alcian Blue otopinu pH 2,5. Bez ispiranja, prekriti preparat otopinom natrijevog tetraborata	10 minuta
7.	Ispiranje pod hladnom tekućom vodom	5 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	1-2 minute
9.	Tretirati Perijodnom kiselinom, 0,8%-tnom otopinom	5-10 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodom	3 minute
11.	Isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	
12.	Tretirati BioSchiff reagensom	10-15 minuta
13.	Tretirati sulfitnom otopinom	3 izmjene u trajanju od 2 minute
14.	Ispirati pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
15.	Bojenje Hematoksilinom ML	1-3 minute
16.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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 ksilena, 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.

b) kompletom sa sedam reagensa od 100 ili 500 mL (AB-K-100, AB-K-500)

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 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/demineraliziranoj vodi	2 minute
5.	Uroniti u Alcian Blue otopinu pH 2,5	30 minuta
6.	Bez ispiranja, uroniti u otopinu natrijevog tetraborata	10 minuta
7.	Ispiranje pod hladnom tekućom vodom	5 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj/demineraliziranoj vodi	1-2 minute
9.	Uroniti u Perjodnu kiselinu, 0.8%-tnu otopinu	5-10 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodom	3 minute
11.	Isprati preparat destiliranom/demineraliziranom vodom	
12.	Uroniti u BioSchiff reagens	10-15 minuta
Napomena: tijekom bojenja obavezno poklopiti posudicu kako ne bi došlo do isparavanja SO ₂		
13.	Bez ispiranja uroniti u sulfitu otopinu	3 izmjene u trajanju od 2 minute
14.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
15.	Uroniti u Hematoksilin ML	1-3 minute
16.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
17.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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

Mucini – plavo tirkizna boja
P.A.S. pozitivne supstance – purpurna (magenta) boja
Jezgre – plava boja
Epitelni mucin i hrskavica – ljubičasta/tamna plava boja

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od opisanog postupka bojenja mogu uzrokovati razlike u rezultatima.

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, histološku obradu uzoraka i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole. Ukoliko tijekom upotrebe ili kao posljedica njegove upotrebe, dode do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

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. Reagensi korišteni 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, uputi za rukovanje te u sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, transport, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. BioSchiff reagens nakon prvog otvaranja držati na temperaturi od +2 °C do +8 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Culling, C.F.A.(1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
- Davey, F.R. et Nelson, D.A.(1977): Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed., W. J. Williams, E. Buettel, A. J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630-1632.
- Hotchkiss, R.D.(1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations, *Arch. Biochem.* 16, str. 131.
- Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory an Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:		
	H225 H319 H336 EUH031	Lako zapaljiva tekućina i para. Uzrokuje jako nadraživanje oka. Može izazvati pospanost ili vrtoglavicu. U dodiru s kiselinama oslobađa otrovni plin.
	P210 P280 P305 + P351 + P338 P308 + P313 P305 + P351 + P338	Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati. U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/pomoć liječnika. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.

AB-IFU, HRV13, 06.06.2024., LQ/iSP

	Proizvođač		Broj serije		Temperaturno ograničenje		Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Jedinstvena identifikacija proizvoda
	Datum proizvodnje		Kataloški broj		Pročitati priloženu uputu		Sadrži dovoljno za <n> testova		
	Rok uporabe		Lomljivo, pažljivo rukovati		Oprez		Europska sukladnost		

BioGnost d.o.o.
Međugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.biognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
13	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	06.06.2024.