

CONGO RED PUCHTLER KIT



In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz



BIOGNOST®

Három reagensből álló készlet amyloid lerakódások kimutatására

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ



Katalógus szám:

CRP-100T (100 metszet festésére)

CRP-K-100 (3x100 ml + 1x30 ml)

Bevezetés

A Congo Red Puchtler kit amyloid lerakódások jelölésére alkalmas szövettani metszetekben. A változó fehérjeösszetételük ellenére az amyloid depozitokat fibrillum beta-redőkből álló rétegek kötik össze. A Congo Red festék a fibrillumokhoz kötődik, mely folyamat során a festékmolekulák egy szabályos mintázatot hoznak létre. A festék strukurális rendezettsége polarizált fény alatt mikroszópban kettős fénytörésű, zöld színt mutat. A Puchtler módszer szerint készült oldatok magas pH-ja és ionerőssége növeli a festék amyloid specifikitását.

Termék leírása

- **CONGO RED PUCHTLER KIT** – Három reagensből álló készlet amyloid lerakódások kimutatására.

A készlet tartalma:	100 tesztre (CRP-100T)	3x100 ml + 1x30 ml (CRP-K-100)
Congo Red, Puchtler reagens	CRPR-OT-100 (100 ml)	CRPR-OT-100 (2 x 100 ml)
Hematoxylin G1	HEMG1-OT-30 (30 ml)	HEMG1-OT-100 (100 ml)
Nátrium- hidroxid oldat	NH-OT-30 (30 ml)	NH-OT-30 (30 ml)

A festés során használatos egyéb eszközök, reagensek:

- Fixálószerek, mint a BioGnost neutrális pufferezett formalin oldatai: Formaldehyde NB 4%, Formaldehyde NB 10%
- Dehidrááló/rehidrááló szerek, mint a BioGnost alkohol oldatok: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100
- Derítő oldatok, mint a BioClear xilol vagy helyettesítői, mint a BioClear New, mely alifás szénhidrogén alapú
- Beágyazó médium, mint a BioGnost granulált paraffinja, a BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro.
- Szövettani és citológiai technikákhoz használt magas minőségű tárgylemezek, mint a VitroGnost SUPER GRADE vagy a BioGnost több, mint 30 tárgylemez típusa közül bármelyik.
- Fedő anyag, mint a BioGnost BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost fedőlemezek 18 x 18 mm-es mérettől 24 x 60 mm-es méretig

Szövettani metszetek előkészítése

- Fixáljuk a szövetmintákat (4% NB Formaldehyde, 10% NB Formaldehyde), öblítsük vízben és dehidráljuk felszálló alkoholsorozatban (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100).
- Derítsünk közbűlő médiumban, xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítő oldatban (BioClear New).
- Itassuk át és öntsük ki a szövetmintát paraffinba (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Metsszük a paraffin blokkot 5-10 µm vastagságú metszetekre, majd húzzuk fel a metszeteket VitroGnost tárgylemezre (a 6 µm-nél vastagabb metszetekhez VitroGnost adhezív tárgylemezre használta javasolt).

A Congo Red Puchtler munkaoldat elkészítése

Megjegyzés: 100% ethylalkohol szükséges a munkaoldat elkészítéséhez (BioGnost Histanol 100)

Üveg festőedényben (küvettában) keverjen össze **8 ml Congo Red Puchtler reagenst és 32 ml 100% ethylalkoholt** (BioGnost Histanol 100). Adjon hozzá **12 csepp Nátrium- hidroxid oldatot**.

100 ml Congo Red Puchtler munkaoldat elkészítéséhez keverjen össze **20 ml Congo Red Puchtler reagenst 80 ml 100%-os ethylalkohollal** (BioGnost Histanol 100). Adjon hozzá **1 ml Nátrium- hidroxid oldatot**.

A Congo Red Puchtler munkaoldatot frissen, közvetlenül a felhasználás előtt kell elkészíteni, majd használat után ártalmatlanítani. Szűrje meg a reagenseket, ha szükségesnek ítéli (filter mérete: 25 µm).

Megjegyzés

- A Congo Red Puchtler munkaoldattal való festést ajánlott üveg küvettában, egyszerre 8 metszeten elvégezni.

A szövettani metszet festése

1.	Deparaffinálja a metszetet xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	3 váltás, mindegyikben 10 perc
2.	Rehidráljon 100%-os alkoholban (Histanol 100)	2 váltás, 5, illetve 3 perc
3.	Rehidráljon 95%-os alkoholban (Histanol 95)	2 perc
4.	Rehidráljon desztillált (vagy ioncserélt) vízben	2 perc
5.	Vigyen fel Hematoxylin G1 oldatot a metszetekre (≥5 csepp)	5 perc
6.	Mosson csapvízben	4 perc
7.	Mártsa a metszetet frissen elkészített Congo Red munkaoldatba	18 perc
8.	Mosson csapvízben	amíg festék távozik a metszetből (pár perc)
9.	Dehidráljon 70%-os alkoholban (Histanol 70)	10 mártás
10.	Dehidráljon 95%-os alkoholban (Histanol 95)	10 mártás
11.	Dehidráljon 100%-os alkoholban (Histanol 100)	3 perc
12.	Derítse a metszeteket xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	2 váltás, mindegyikben 5 perc

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedőanyaggal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

A festés eredménye

Amyloid lerakódások - téglavörös, polarizált fényben zöld
Kollagén – élénk piros, polarizált fényben szürke-ezüst
Sejtmagok - kék

Megjegyzés

Polarizált fényben az amyloid lerakódások kettős fénytörést mutatnak (zöldek). Az ezzel az eljárással végzett amyloid kimutatás és rögzítés megfelelő kivitelezése függ a metszetvastagságtól, a polarizációs megvilágítás megfelelő használatától és a digitális korrekciótól.

A festési módszerek nem standardizált eljárások, nagyban függenek az egyes laboratóriumok működési folyamataitól és az eljárást végző személyzet tapasztaltságától. A festés intenzitása a festékeknek és reagenseknek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás egyéb protokollok alapján is elvégezhető egyéni preferenciának és az adott laboratórium standard működési folyamatainak megfelelően.

A minta előkészítése és diagnosztika

A minta levételéhez és előkészítéséhez csak erre alkalmas eszközt használjon. A minták feldolgozása korszerű körülmények között és világos megjelöléssel végezhető. Mindig kövesse a gyártó használati útmutatóját! A hibák elkerülése érdekében a festési eljárást és annak kiértékelését arra jogosult és képzett szakszemélyzet végezze el. Kiértékeléshez az orvosi diagnosztikai laboratóriumok követelményrendszerének megfelelő mikroszkópot használjon. A hibás eredmény elkerülése érdekében mindig végezzen pozitív és negatív kontroll vizsgálatot!

Munka- és környezetvédelem

A terméket a munkavédelmi és környezetvédelmi irányelveknek megfelelően használja. A használt vagy lejárt szavatossági idejű oldatokat a nemzeti ajánlásoknak megfelelően veszélyes anyagként kell kezelni és megsemmisíteni. Az ehhez a festési eljáráshoz alkalmazott reagensek veszélyesek lehetnek az emberi egészségre. A folyamat során vizsgált minták fertőzésveszélyt jelenthetnek. Az emberi egészség megóvása érdekében a jó laboratóriumi gyakorlatnak megfelelő ajánlott védő intézkedések betartása javasolt. A termékek a rajtuk található figyelmeztető jelzéseknek, valamint a BioGnost termékbiztonsági adatlapjaiban leírtaknak megfelelően kezelendők.

Tárolás, stabilitás és lejárat idő

A Congo Red Puchtler Kit szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagenst tartsuk száraz helyen, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárat dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

1. Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.
2. Elghetany, M.T., Saleem, A., Barr, K. (1989), The congo red stain revisited, Annals of Clinical and Laboratory Science, 19(3):190-5.

CRP-X, V5-EN5, 11 February 2019, IŠP/VR

	Lásd a mellékelt dokumentumon		Tárolási hőmérséklet		Tesztek száma csomagolásonként	REF	Termékkód		Európai minősítés
	Lásd a mellékelt útmutatót		Hőtől és fénytől védve tárolandó		Minőségét megőrzi	LOT	Lot szám		Gyártó
IVD	In vitro diagnosztikai alkalmazásra		Száraz helyen tárolandó		Vigyázat, törékeny				

 BIOGNOST Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com 