

Histoperls Souprava

Fixace a diferenciální barvení buněčných struktur

Pro použití v laboratoři vyškoleným personálem. In Vitro diagnostické zařízení.

1 – Použití

Souprava Histoperls je určena pro diferenciální barvení histo-cytologických struktur před mikroskopováním.

2 – Princip stanovení

Ionty železa v kyselém prostředí reagují s ferrocyanidem draselným a tvoří precipitát ferrocyanid železitý (neboli Pruskou modrou), který ukazuje přítomnost patologického pigmentu hemosiderinu.

Tento pigment se nachází v játrech a kostní dřeni u pacientů s hematochromatózou, cirhózou a u některých anémií.

3 – Reagencie

Kyselý pufr a ferrokyanid draselný	Nuclear Red roztok
361955-0005 10 x 5 ml	320910-0100 1 x 100 ml

4 – Skladování a manipulace

Výše uvedené reagencie skladujte při pokojové teplotě (15 – 25°C), mimo přímé sluneční světlo.

Datum expirace před a po otevření jsou uvedeny na obalu.



Veškerá manipulace se vzorky a reagensy musí být prováděna vyškoleným personálem dle relevantních norem. Při manipulaci používejte správná ochranná zařízení pro jednotlivce i pro pracoviště dle příslušných regulací.

Personál musí být obeznámen s klasifikací nebezpečí materiálu. Viz bezpečnostní list pro uvedené reagenci.

Měření musí být provedeno autorizovaným personálem dle platných laboratorních řádů.

Poznámky:

Čas barvení se může lišit dle struktury barvených buněk.

Směs kyselého pufru a Ferrokyanidu draselného se musí použít do 30 minut po namíchání. Jakmile se barva této směsi změní na světle modrou a zeleno-modrou, nemůže být použita.

Nuclear Red roztok skladujte mimo přímé sluneční záření.

Nepoužívejte kovové nástroje během barvení.

Používejte důkladně umyté skleněné pomůcky – jakékoliv železo z vnějšího zdroje může způsobit nepředvídatelné struktury v preparátu.

5 – Barviva

361955: Ferrokyanid Draselný (CAS 14459-95-1) ca 0,5%

320910: Nuclear fast red (CAS 6409-77-4) < 0,2%

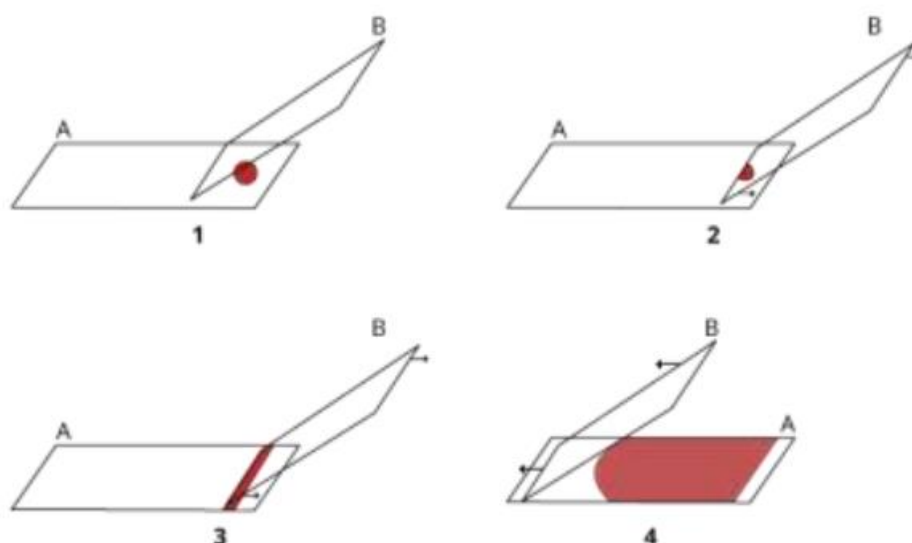
6 – Příprava vzorku

Manipulujte se vzorky dle laboratorních norem.

Zkumavku se vzorkem promíchejte pomalou inverzí. Na zkumavku nasadte kapátko a na sklíčko dejte kapku krve. Druhým sklíčkem, v úhlu 45°, nejprve nechte kapku kapilárně rozšířit na šířku sklíčka, pak sklíčkem protáhněte krev podél dolního sklíčka.

Dobrý nátěr nesahá na konec sklíčka, je postupně tenčí a na konci roztřepený.

Před barvením nechte nátěr uschnout.



Pozn.: Pokud nemáte k dispozici kapátko na zkumavky, zkumavku se vzorkem otevřete a použijte pipetu.

Histologické vzorky

Oddělejte vosk a rehydratujte buněčnou sekci před barvením.

Manuální nátěr kostní dřene

Pipetou dejte malou část vzorku na sklíčko. Odsajte přebytečnou krev a zbylé hromádky překryjte druhým sklíčkem. Posunováním horního sklíčka se ztenčí a rozetře vrstva buněk. Po rozetření vzorku odstraňte vrchní sklíčko a nechte vzorek uschnout.

7 – Příprava reagensů a nástrojů

Nuclear Red roztok je připraven k použití.

Roztok Ferrokyanidu draselného: Zatlačte na zátku abyste uvolnili tabletu s Ferrokyanidem Draselným do kyselého pufru. Lahvičku pořádně promíchejte do úplného rozpuštění tablety. Směs je normálně zakalená.

Nasadte na lahev nalévací zátku – viz obrázek níže.

Po 30 minutách se roztok ferrokyanidu změní nejdřív na světle modrou, pak na zeleno-modrou. Zeleně zbarvený roztok nepoužívejte.

Výrobce: RAL Diagnostics – Site Montesquieu – 33650 Martillac – Francie
Ral-diagnostics.fr – cellavision.com



Potřebný materiál

Mikroskopická sklíčka.

Materiál se může lišit dle použitého postupu.

8 – Protokoly

Níže uvedené protokoly sestávají z postupných máčení sklíček v nádobách s různými barvicími roztoky.

Histologické vzorky – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Oddělejte vosk a rehydratujte vzorek před barvením.

Délka barvení: 40 minut

Kroky	Reagencie	Čas [min:s]	Instrukce
Barvení	Roztok ferrokyanidu draselného	30:00	Obrázek 2, část 4
Opláchnutí	Destilovaná voda	-	Obrázek 2, část 7
Barvení	Nuclear Red	10:00	Obrázek 2, část 6
Opláchnutí	Destilovaná voda	-	Obrázek 2, část 7
Dehydratace	Postupně větší koncentrace alkoholu	-	Až do 100% alkoholu
Dehydratace	Toluen nebo xylen	-	-
Preparát	Médium založené na toluenu nebo xylenu	-	-

Krevní nátěry a kostní dřev – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 43 minut

Kroky	Reagencie	Čas [min:s]	Instrukce
Fixace	Methanol	03:00	-
Schnutí	-	-	Na vzduchu
Barvení	Roztok ferrokyanidu draselného	30:00	Obrázek 2, část 4
Opláchnutí	Destilovaná voda	-	Obrázek 2, část 7
Barvení	Nuclear Red	10:00	Obrázek 2, část 6
Opláchnutí	Destilovaná voda	-	Obrázek 2, část 7
Schnutí	-	-	Na vzduchu

9 – Předpokládané výsledky

Železité soli: zářivě modrá

Jádra: červená

Pokud se výsledky liší od předpokladu, kontaktujte prosím výrobce nebo jeho zástupce.

10 - Charakteristika

Analytická validita reagií je zaručena CE certifikací. Pro optimální výsledky používejte čisté a suché laboratorní příslušenství. Laboratoř je zodpovědná za kontaktování výrobce nebo jeho zástupce při jakékoliv závažné příhodě.

11 – Kontrola kvality

Uživatelé jsou zodpovědní za provedení kontroly kvality, její procedury a návaznosti s příslušnými laboratorními řády.

Stabilita barvy:

Kvalita a reprodukovatelnost barvení záleží na správném použití produktů. Správně nabarvené vzorky jsou stabilní po dobu několika dnů.

Směs kyselého pufru a Ferrokyanidu draselného je stabilní maximálně 30 minut. Po této době změní barvu na světle modrou, pak na zeleno-modrou, a již není použitelné pro barvení.

Pokud je potřeba skladovat nátěry několik měsíců až let, výrobce doporučuje zakrýt je krycím sklíčkem se správnou tekutinou a skladovat v prachotěsném obalu.

Neotevřené, správně skladované reagentie jsou stabilní až do data expirace uvedeného na obalu.

12 – Bezpečnostní údaje

Se všemi vzorky biologického původu by se mělo manipulovat jako s potencionálně infekčními. Likvidaci provádějte dle místních platných regulací.

Chemický a biologický odpad musí být shromážděn a likvidován registrovanými společnostmi. Bezpečnostní údaje jednotlivých reagentií naleznete v jejich příslušných bezpečnostních listech.

13 – Reference

GANTER P., JOLLES G., *Histochimie normale et pathologique*, éd. GAUTHIER VILLARS, vol. 2, 1970, p. 1672-1673.

LORD-DUBE H. L'ITALIEN R. *Hématologie*, éd. Décarie, 1983, p. 194-196.

SOCIETE FRANCAISE D'HEMATOLOGIE (SFH), *Guides des bonnes pratiques des ponctions médullaires*, Juin 2003, VI.2

THEML H., *ATLAS de poche d'Hématologie*, Médecine-Sciences Flammarion, p. 19-25, 2000

Revize: 05_2022