

EOZIN KONTRAST

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod CE

Modificirana alkoholna otopina za kontrastno bojanje citoplazme

Reagens sadrži Eozin Y i Phloxine B za dodatni efekt kontrastnog bojenja citoplazme

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: EOYK-OT-1L (1000 mL)

EOYK-OT-2.5L (2500 mL)

Uvod

BioGnostov Eozin Kontrast alkoholni je reagens koji se koristi kao kontrastna boja hematoksilinu u histološkoj metodi bojanja, hematoksilin i eozin (HE) bojenju. Ovom metodom se radi postizanja bolje vizualizacije i diferencijacije staničnih struktura, jezgre mikroskopskih uzoraka najprije oboje hematoksilinom u plavu boju, a potom se eozinom citoplazme oboje u nekoliko nijansi ružičaste boje. Za razliku od standardnih vodenih otopina eozina, alkoholna otopina eozina i floksina boji preparate intenzivnijim nijansama ružičaste i crvene boje. Eozin Y i Phloxine B su anionske boje koje osim bazičnih komponenata stanica, poput citoplazme, kolagena i mišićnih vlakana, boje i eritrocite žarkom crvenom bojom.

Opis proizvoda

- **EOZIN KONTRAST** – Alkoholna otopina eozina i floksina za kontrastno bojanje citoplazme. Sadrži stabilizatore za duži rok uporabe.

Ostali preparati i reagensi 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 prosvjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- Sredstvo za diferencijaciju poput BioGnostovog Kiselog alkohola
- Sredstvo za plavljenje poput BioGnostove Scottove otopine ili Bluing reagensa
- 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 C, BioMount Aqua
- VitroGnost pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- Reagensi za bojanje jezgri poput BioGnostovih otopina hematoksilina: Hematoksilin H, Hematoksilin ML, Hematoksilin G1, Hematoksilin G2, Hematoksilin G3 i Hematoksilin M

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 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, progressivno

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 (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje Hematoksilinom M, Hematoksilinom ML, Hematoksilinom G1, G2 ili Hematoksilinom H	3-5 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati	
6.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu do prestanka otpuštanja boje s preparata	
7.	Plavljenje jezgri Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensa ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
8.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu	
9.	Uroniti preparat u 95%-tni alkohol (Histanol 95)	30 sekundi
10.	Bojenje Eozin Kontrast otopinom	unutar 15 sekundi
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
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.

Postupak bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, regresivno

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 (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje Hematoksilinom ML, Hematoksilinom G3 ili Hematoksilinom H	4-8 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati	
6.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu do prestanka otpuštanja boje s preparata	
7.	Diferencijacija Kiselim alkoholom	3-10 urona
	Napomena: Ovim korakom uklanja se višak hematoksilina iz jezgre i citoplazme. Ako je preparat predugo tretiran sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri.	
8.	Isprati u destiliranoj vodi	
9.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensa ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
10.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu	
11.	Uroniti preparat u 95%-tni alkohol (Histanol 95)	30 sekundi
12.	Bojenje Eozin Kontrast otopinom	unutar 15 sekundi
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
15.	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

Jezgra - plava boja

Citoplazma, kolagen, mišićna vlakna, eritrociti - nijanse ružičaste boje

Napomena

Vremenski periodi postupka bojanja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojanja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

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, postupak bojanja 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

Eozin Kontrast čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Bruce-Gregorios, J.H. (1974): *Histopathologic Techniques*, IMC Press Inc., Quezon City, Philippines.
2. Cook, D.J. (2009): *Cellular Pathology: An introduction to techniques and applications*. 2nd ed., Scion Publishing Ltd., Bloxham.
3. Gurr, E. (1971): *Synthetic dyes in biology, medicine and chemistry*. Academic Press, London.

EOYK-X, V4, 12.07.2019., AK/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

