

# HISTANOL EP 95/100

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod CE

## Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju

Mješavina denaturiranog etilnog i izopropilnog alkohola za primjenu u histologiji i citologiji

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HEP95-1L (1000 mL) HEP95-5L(5000 mL) HEP95-10L (10000 mL)  
HEP100-1L (1000 mL) HEP100-5L(5000 mL) HEP100-10L (10000 mL)

#### Uvod

Histologija, citologija i druge srodne znanstvene discipline proučavaju mikroskopsku anatomiju tkiva i stanica. Kako bi postigli dobru vizualizaciju tkivnih i staničnih struktura, potrebna je kvalitetna obrada uzoraka. Histološka obrada uzoraka sastoji se od nekoliko koraka, među kojima se tri temelje na dehidraciji i rehidraciji. Prvi od tih koraka je priprema uzoraka za infiltriranje i uklapanje u parafin te rezanje parafinskih blokova na tanke rezove, drugi je priprema uzoraka za bojenje, a treći je priprema uzoraka za montiranje na predmetno staklo. Većina medija za uklapanje i infiltriranje (poput najčešće korištenog parafina) neće prožeti uzorak koji sadrži vodu zbog čega je prethodna dehidracija nužni korak. Nakon dodavanja intermedija (medija koji omogućuje prožimanje uzorka parafinom) i uklapanja u parafin te rezanja na tanke rezove i montiranja na predmetno staklo, preparat može stajati neko vrijeme bez gubitka kvalitete. Međutim, prije postupka bojenja, potrebno je iz preparata ukloniti parafin i vratiti vodu (rehidrirati). Tek tada se preparat može obojiti histološkim bojama. Na sličan način se postupa i s citološkim uzorcima.

Većina dehidracijskih sredstava su alkoholi. Jedno od njih je i mješavina denaturiranog etilnog alkohola i izopropilnog alkohola, tj. BioGnostov Histanol EP. Histanol EP je prozirna, bezbojna, zapaljiva tekućina, koju karakterizira brzo djelovanje i visoka učinkovitost.

#### Opis proizvoda

- **HISTANOL EP 95, HISTANOL EP 100** – Mješavine denaturiranog etilnog alkohola i izopropilnog alkohola za dehidraciju/rehidraciju tkivnih i citoloških uzoraka.

#### 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 DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- Reagens za bojenje jezgre poput BioGnostovog Hematoksilina H
- Reagensi za kontrastno bojenje poput BioGnostovih otopina eozina

#### 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, progresivno

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
2.	Rehidracija u Histanolu EP 100	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u Histanolu EP 95	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Bojenje 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 reagensna ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
8.	Bojenje jednom od kontrastnih otopina eozina do optimalnog obojenja preparata	15 sekundi - 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute.	
9.	Ispiranje pod tekućom vodom	2 minute
10.	Dehidracija u Histanolu EP 95	2 izmjene s 10-15 urona
11.	Dehidracija u Histanolu EP 100	3 izmjene s 10-15 urona

12.	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 - tamno plava boja

Citoplazma, kolagen, elastin, eritrociti – nijanse ružičaste boje (kod bojenja Eozin Kontrastom nijanse crveno-ružičaste boje)

### Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja nisu u potpunosti standardizirani te okvirno odgovaraju dugogodišnjoj kliničkoj i laboratorijskoj praksi. 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 suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka 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

Histanol EP 96/100 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

1. Carson, F.L. (1926): *Histotechnology: a self-instrucional text*. 2<sup>nd</sup> ed., Singapore: American Society for Clinical Pathology.
2. Sheehan, D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): *Theory and Practice of Histotechnology*, 2<sup>nd</sup> ed., St. Louise: CV Mosby Co.
3. Papanicolaou GN: Some improved methods for staining vaginal smears. *J Lab Clin Med*. 1941;26:1200-1205
4. Papanicolaou GN: A new procedure for staining vaginal smears. *Science*. 1942;95:438-439

HEP-X, V3, 01.07.2019., 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

