

HEMATOKSILIN CAR

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Modificirani Hematoksilin po Carazziju za bojenje jezgre Reagens za progresivno bojenje smrznutih prereza u histopatologiji

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HEMCA-OT-100 (100 mL)

HEMCA-OT-500 (500 mL)

HEMCA-OT-1L (1000 mL)

Uvod

BioGnostov Hematoksilin Carazzi je formulacija hematoksilina koji se koristi u histopatologiji za precizno bojenje staničnih jezgara u preparatima tkiva fiksiranih u formalinu i uklopljenih u parafin, ali također se često koristi na smrznutim prerezima hitnih biopsija. Koristi se u progresivnoj metodi bojenja, s kratkim vremenom inkubacije. Daje vrlo nježno i precizno obojenje jezgre bez obojenja citoplazmatskih komponenti.

Hematoksilin se dobiva ekstrakcijom iz kampehovog drva (*Haematoxylon campechianum* L.). Oksidacijom hematoksilina u hematein i vezanjem s metalnim ionima (mordantima) hematein postaje nezamjenjiva nuklearna boja. Pozitivno nabijeni kompleks hemateina i mordanta veže se s negativno nabijenim fosfatnim ionima jezgre DNA dajući karakteristično plavo obojenje.

Opis proizvoda

- **HEMATOKSILIN CAR** - Reagens za progresivno nuklearno bojenje u histopatologiji.

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 pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- Reagensi za kontrastno bojenje poput BioGnostovih otopina eozina: Eozin Y 0,2% vodeni, Eozin Y 0,5% vodeni, Eozin Y 1% vodeni, Eozin Y 2% vodeni, Eozin Y 0,5% alkoholni, Eozin Kontrast

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

1.	Deparafinacija u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
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 CAR	5 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati.	
6.	Kratko ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: U nedostatku navedenih reagensa, preparat plaviti pod indirektnim mlazom tekuće vode	
8.	Uroniti preparate u destiliranu/demineraliziranu vodu	
9.	Bojenje kontrastnom otopinom eozina Y	15 sekundi-2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina Y znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina Y preporuča 2 minute, odnosno 90 sekundi	
10.	Ispiranje pod tekućom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	2 minute
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
13.	Bistrenje u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minuta

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.

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.

Rezultat

Jezgre - plava boja

Citoplazme - nijanse ružičaste boje (nijanse crvene boje kod bojenja Eozin Kontrastom)

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

Hematoksin CAR 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. Baker, J.R. (1962): Experiments on the action of mordants. 2. Aluminium-hematein. Q.J.Microsc. Sci. 103, str. 493-517.
2. Conn, J. (1977): Biological Stains, 9th ed., Baltimore: Williams and Wilkens Co.
3. Bancroft, J.D. and Stevens A. (2008): Theory and practice of histological techniques, 6th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh & London, UK

HEMCA-X, V6, 31.3.2021., KB/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		Opazuj lomljivo				



BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

