

HEMATOKSILIN INSTANT KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za brzu i jednostavnu pripremu 1 litre Hematoksilina Instant, primjena u histologiji i citologiji

Sadrži dvije komponente

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HEMI-K-1L (za pripremu 1 L Hematoksilina Instant) HEMI-K-6L (za pripremu 6 x 1 L Hematoksilina Instant)

Uvod:

BioGnostov Hematoksilin Instant komplet posebno je napravljen za brzu, jednostavnu i praktičnu pripremu Hematoksilina Instant koja se može koristiti za bojenje histoloških i citoloških preparata. Sastoji se od dvije, posebno stabilizirane komponente čijim se miješanjem (i otapanjem u destiliranoj vodi) dobiva formulacija hematoksilina koja se može koristiti kao zamjena za Harris ili Gill hematoksilin. Hematoksilin Instant daje vrlo precizne i jasne rezultate bojenja staničnih jezgara, a može se koristiti i u progresivnoj i u regresivnoj metodi bojenja. Također, ne sadrži oksidans na bazi živinog klorida i nije štetan za okoliš.

Opis proizvoda:

- HEMATOKSILIN INSTANT KOMPLET** – komplet za pripremu Hematoksilina Instant za nuklearno bojenje u histopatologiji i citologiji.

Hematoksilin Instant komplet sadrži:	za pripremu 1L Hematoksilina Instant (HEMI-K-1L)	za pripremu 6 x 1L Hematoksilina Instant (HEMI-K-6L)
Hematoksilin Instant – komponenta A	1 x HEMI-KA	6 x HEMI-KA
Hematoksilin Instant – komponenta B	1 x HEMI-KB	6 x HEMI-KB

Priprema Hematoksilina instant

1.	Usipati sav sadržaj komponenti A i B Hematoksilina Instant u spremnik u koji stane više od 1 L tekućine.
2.	Dodati 1 L destilirane (demi) vode. NE KORISTITI VODOVODNU VODU. Ukoliko se Hematoksilin Instant koristi za bojenje citoloških preparata ili u progresivnom postupku bojenja, otopiti komponente A i B u 1,5 do 2 L destilirane (demi) vode. Napomena: radi bolje stabilnosti, manje količine taloga i dužeg roka trajanja preporučamo umjesto 1L destilirane vode dodati 900 mL destilirane vode i 100 mL etilen glikola (CAS: 107-21-1). Odnosno, za citološko ili progresivno bojenje otopiti u 1350 mL destilirane vode i 150 mL etilen glikola ili za još specifičnije bojenje otopiti komponente u 1800 mL destilirane vode i 200 mL etilen glikola.
3.	Dobro miješati otopinu nekoliko minuta dok se sav sadržaj ne otopi. Pričekati barem sat vremena prije prvog bojenja. Napomena: za najbolje rezultate pričekati 12 sati prije prvog bojenja
4.	Filtrirati Hematoksilin Instant prije korištenja. Talog i površinska patina normalno se pojavljuju kod ovog tipa proizvoda.
5.	Čuvati Hematoksilin Instant u dobro zatvorenoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok trajanja pripremljenog Hematoksilina Instant je 6-9 mjeseci.

Primjena Hematoksilina Instant:

a) u postupku bojenja histoloških preparata

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

Postupak bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, regresivno

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u silaznom nizu alkohola (Histanol 100, Histanol 95) i u destiliranoj (demi) vodi	10 urona u svakoj od 3 izmjene
3.	Bojenje Hematoksilinom Instant	2-5 minuta
	Napomena: kod progresivnog bojenja vrijeme inkubacije je kraće	30 sekundi – 2 minute
4.	Ispiranje pod destiliranom (demi) vodom	1 minuta
5.	Diferencirati u Kiselom alkoholu	3-10 brzih urona
	Napomena: Ovim se korakom uklanja višak hematoksilina. Ako se preparat predugo tretira sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri. Kod progresivnog bojenja preskočiti ovaj korak	
6.	Isprati 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	3-5 minuta
8.	Bojenje Eozinom Instant, alkoholnim ili vodenim do optimalnog obojenja preparata. Eozin Instant, alkoholni postići će dobro obojenje unutar 30 sekundi do 1 minute, a Eozin Instant, vodeni unutar 3 minute.	30 sekundi – 3 minute
	Napomena: Eozin Instant može se zamijeniti bilo kojom vodenim ili alkoholnom otopinom eozina tvrtke BioGnost	
9.	Ispirati pod tekućom vodovodnom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	30 sekundi
10.	Dehidrirati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10-15 urona u svakoj od 2 izmjene
11.	Potpuno dehidrirati u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10-15 urona u svakoj od 3 izmjene
12.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 minute u svakoj od 2 izmjene

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:

Jezgre - plava boja

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

b) u postupku bojenja citoloških (ginekoloških uzorka) prema Papanicolaou metodi, regresivno

Početak postupka bojenja ovisi o načinu na koji je citološki uzorak prikupljen i fiksiran na mikroskopsko predmetno staklo.

Ukoliko je uzorak suh i prethodno fiksiran sredstvom koje sadrži poliglikole (Citospray), prije bojenja potrebno ga je držati 10 minuta u 95% alkoholu (Histanol 95) radi uklanjanja poliglikola. Ukoliko je preparat fiksiran 95%-tnom alkoholnom otopinom (Histanol 95), ovaj korak je suvišan. Prilikom postupka bojenja citoloških uzoraka pripremljenih metodom tekuće citologije (LBC) koji sadrže nisku koncentraciju alkohola, rehidracija silaznim nizom alkoholnih otopina nije potrebna. Postupak započinje ispiranjem preparata destiliranom (demi) vodom te se nastavlja postupkom bojenja Hematoksilinom Instant.

1.	Rehidracija u silaznom nizu alkohola (Histanol 95, Histanol 80 i Histanol 70) i u destiliranoj (demi) vodi	6-8 urona u svakoj od 4 izmjene
2.	Bojenje Hematoksilinom Instant	4 minute
	Napomena: kod progresivnog bojenja vrijeme inkubacije je kraće	30 sekundi
3.	Ispiranje u destiliranoj (demineraliziranoj) vodi	6-8 urona
4.	Diferencijacija HCL Papa reagensom ili u 0,1%-tnoj otopini HCl-a	5-10 sekundi
	Napomena: Ovim korakom uklanja se višak hematoksilina iz jezgre i citoplazme. Ako je preparat predugo tretiran sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri.	
5.	Ispiranje u destiliranoj vodi	6-8 urona
6.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: U nedostatku navedenih reagensa, preparat plaviti pod indirektnim mlazom tekuće vode	3-5 minuta
7.	Dehidracija u uzlaznom nizu alkohola (Histanol 70, Histanol 80 i Histanol 95)	6-8 urona u svakoj od 3 izmjene
8.	Bojenje OG-6 reagensom, Papa 2A	2 minute
9.	Ispiranje u 95%-tnom alkoholu kroz dvije izmjene (Histanol 95)	6-8 urona u svakoj od 2 izmjene
10.	Bojenje EA 31 reagensom, Papa 3A ili EA 50 reagensom, Papa 3B	4 minute
11.	Ispiranje u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	6-8 urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	6-8 urona
13.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3-5 minuta
14.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	6-8 urona
15.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3-5 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.

Rezultat

Jezgre - plava boja

Keratinizirane stanice - žuto-narančasta boja

Superficialne epitelne pločaste stanice, eritrociti, nukleoli, trepetljike - ružičasto-crvena boja

Citoplazma svih drugih tipova stanica (parabazalnih i intermedijarnih pločastih stanica, cilindričnih stanica, polimorfonuklearnih leukocita, limfocita, histiocita, adenokarcinoma, nediferenciranih stanica karcinoma) - zelena boja

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 bojenja 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

Hematoksilin Instant komplet 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 Wilkins Co.
3. Harris, H.F. (1898): A new method of "ripening" haematoxylin. *Microsc. Bull.* (Philadelphia) Dec. 47.
4. Harris, H.F. (1900): On the rapid conversion of haematoxylin into haematein in staining reactions. *J. Appl. Microsc.* 3: str. 777-780.

HEMI-K-X, V4, 31.03.2021., 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	 Oprez lomljivo		

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

