

HEMATOKSILIN P.T.A.

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Sinonimi: Hematoksilin Phosphotungstic Acid, Mallory P.T.A.H. reagens

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HPTA-OT-500 (500 mL)

HPTA-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Hematoksilin P.T.A. reagens koristi se za bojenje kolagena, mišićnog tkiva (dobro se razlikuje glatko od prugastog mišićnog tkiva), Nemaline štapića (prisutni u nekim bolestima skeletnih mišića), fibrina (vidljiv u tkivima sa svježim oštećenjima, u akutnim upalnim reakcijama), gliju vlakana (prikaz glioze u središnjem živčanom sustavu), određenih elastičnih vlakana, hrskavice i koštanog matriksa. Volfram iz suviška fosfovolframove kiseline u reagensu, veže sav dostupan hematein i stvara plavi pigment, koji selektivno oboji poprečnoprugaste mišiće, fibrin, jezgre i neke druge elemente tkiva plavo. Ostatak fosfovolframove kiseline oboji crveno-smeđe strukture, kao što je kolagen. Hematoksilin P.T.A. sastavni je dio Hematoksilin P.T.A. kompleta.

Opis proizvoda

HEMATOKSILIN P.T.A. – reagens koji sadrži hematoksilin i fosfovolframovu kiselinu za selektivno bojenje tkivnih struktura.

Primjer primjene Hematoksilina P.T.A. kao komponente Hematoksilin P.T.A. kompleta

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojanja:

- 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
- 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
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- Ostale komponente Hematoksilin P.T.A. kompleta: Kalijev permanganat, 0.5%-tna otopina (kat. br. KP05-OT-100), Sumporna kiselina, 0.5%-tna otopina (kat. br. SK05-OT-100), Oksalna kiselina, 1%-tna otopina (kat. br. OKS1-OT-100)

Priprema histoloških preparata za bojanje

- Uzorak 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 uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (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.

NAPOMENA:

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Kako ne bi došlo do isušivanja preparata, preporučamo korištenje komorice/posudice za inkubaciju.

Postupak bojenja histoloških preparata Hematoksilin P.T.A. kompletom s četiri reagensa od 100 mL (HPTA-K-100)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

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.	Pomiješati jednaki volumen Kalijevog permanganata, 0.5%-tne otopine i Sumporne kiseline, 0.5%-tne otopine, kratko promiješati. Uroniti preparat u pripremljenu otopinu.	5 minuta
	Napomena: nakon korištenja otopinu baciti	
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Uroniti u Oksalnu kiselinu, 1%-tnu otopinu	5 minuta
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Uroniti preparat u Hematoksilin P.T.A. Napomena: ukoliko želite ubrzati postupak bojenja, Hematoksilin P.T.A. zagrijati na 20 sekundi u mikrovalnoj (500 W), izvaditi otopinu iz mikrovalne, uroniti preparat i inkubirati 15 minuta (ne vraćati u mikrovalnu!). Makroskopski provjeriti obojenost preparata te ukoliko nije dovoljno obojeno, ponoviti postupak sve dok se ne postigne zadovoljavajuće obojenje	inkubirati preko noći na sobnoj temperaturi
10.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	3-4 sekunde
11.	Diferencirati u 95%-tnom alkoholu	nekoliko brzih urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 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

Tamnoplava boja – jezgre, fibrin, miofibrili, astrociti, određena elastična vlakna, mijelina vlakna, glija stanice
Nijanse ciglene crvene boje - kolagen, hrskavica, koštani matriks

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

Literatura

1. Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Lillie, R.D. (1945): Studies on selective staining of collagen with acid aniline dyes, J. Technical Methods, 25:1
3. Peers, J.H. (1941): A modification of Mallory's Phosphotungstic acid hematoxylin stain for formaldehyde-fixed tissue. *Arch. Pathol.* 32:446
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

HPTA-OT-X, V3, 10.07.2019., 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		Opres lomljivo				

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

