

# HEMATOKSILIN W KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

**Hematoksilin otporan na kisele otopine po Weigertu**  
**Komplet sastavljen od dva reagensa, boji jezgre plavo-crno**

## UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HEMW-100T (za 100 testiranja) HEMW-K-100 (2 x 100 mL) HEMW-K-500 (2 x 500 mL) HEMW-K-1L (2 x 1000 mL)

### Uvod

Hematoksilin po Weigertu koristi se u kombinaciji s raznim specijalnim (trikromnim) bojama gdje zahvaljujući otpornosti na kisele otopine zadržava boju te boji stanične jezgre. Za razliku od standardnih otopina hematoksilina koje se koriste u histologiji, poput hematoksilina po Harrisu, Mayeru, Mayer-Lillieu i Gillu, hematoksilin po Weigertu sadrži ione željeza koji stvaraju otpornost na kisele otopine i nagle promjene pH vrijednosti. Trikromne metode u kojima se najčešće koristi hematoksilin po Weigertu su: AFOG, Gomori Trichrome, Masson-Goldner Trichrome, Masson Trichrome, Van Gieson Trichrome, Elastika-van Gieson te Weigert-Van Gieson. Većina navedenih metoda primjenjuje se za bojenje mišićnih i vezivnih vlakana.

### Opis proizvoda

- **HEMATOKSILIN W KOMPLET** – Komplet za bojenje jezgri

Komplet sadrži:	100 testiranja (HEMW-100T)	2 x 100 mL (HEMW-K-100)	2 x 500 mL (HEMW-K-500)	2 x 1000 mL (HEMW-K-1L)
Hematoksilin, Weigert A	30 mL (HEMA-OT-30)	100 mL (HEMA-OT-100)	500 mL (HEMA-OT-500)	1000 mL (HEMA-OT-1L)
Feri reagens, Weigert B	30 mL (FR-OT-30)	100 mL (FR-OT-100)	500 mL (FR-OT-500)	1000 mL (FR-OT-1L)

### 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 umerziju poput Imerzjskog ulja, Imerzjskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzjskog ulja Tropical Grade
- Specijalnih boja za histologiju poput A.F.O.G., Gomori Trichrome, Masson-Goldner Trichrome, Masson Trichrome, Movat, Mucicarmin, Van Gieson Trichrome, Elastika-Van Gieson te Weigert-van Gieson kompleta

### Priprema radne otopine

#### Hematoksilin Weigert radna otopina

- Pomiješati Hematoksilin, Weigert A i Feri reagens, Weigert B u omjeru 1:1. Pripremiti volumen radne otopine koji će se iskoristiti u postupku bojenja jer je radna otopina stabilna otprilike dva tjedna. Otopinu baciti nakon što jezgre prilikom bojenja poprime smeđu boju.

#### 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 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.

### NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

### Postupak bojenja uzorka

#### a) kompletom za 100 testiranja (HEMW-100T)

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 Hematoksilin Weigert radnom otopinom (nakapati $\geq 5$ kapi)	5 – 10 minuta
	Napomena: za jače obojene jezgre inkubirati preparate 10 minuta u Hematoksilin Weigert radnoj otopini	
6.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
7.	Bojenje kontrastnim reagensom (ovisno o tipu kompleta specijalnih boja koja se primjenjuje)	
8.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
9.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
10.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
11.	Bistenje u ksilenom (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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### b) kompletom s dva reagensa od 100, 500 ili 1000 mL (HEMW-K-100, HEMK-K-500, HEMW-K-1L)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice (radnu otopinu baciti ili potrošiti u roku od 2 tjedna). Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

1.	Deparafinacija u ksilenu (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.	Uroniti u Hematoksilin Weigert radnu otopinu	5 - 10 minuta
	Napomena: Napomena: za jače obojene jezgre inkubirati preparate 10 minuta u Hematoksilin Weigert radnoj otopini	
6.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
7.	Bojenje kontrastnim reagensom (ovisno o tipu kompleta specijalnih boja koja se primjenjuje)	
8.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
9.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
10.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
11.	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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

#### Rezultat

Jezgre – plavo-ljubičasta boja ukoliko se na preparatu nalazi samo Weigert hematoksilin. U kombinaciji s specijalnim kompletima, jezgre poprimaju plavo-crnu boju

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

#### Literatura

1. Bancroft, J.D. et Stevens, A. (1982): Theory and practice of histological techniques, 2nd ed., Churchill Livingstone, Edinburgh & London, UK.
2. Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2nd ed., Butterworth, London, UK
3. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

HEMW-X, V12, 10.07.2019., IŠP/VR

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 REF Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Za jednokratnu upotrebu	 LOT Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Oprez lomljivo	 Vrijedi do	

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

