BIOGNOST®

HEMATOKSILIN M

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Modificirani hematoksilin po Mayeru za bojenje jezgre

Reagens za progresivno bojenje u histopatologiji i za kontrastno bojenje u imunohistokemiji

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HEMM-OT-100 (100 mL) HEMM-OT-500 (500 mL) HEMM-OT-1L (1000 mL) HEMM-OT-2.5L (2500 mL)

Uvod

BioGnostov Hematoksilin M jedna je od formulacija hematoksilina koje se koriste u histopatologiji i imunohistokemiji radi preciznog bojenja staničnih jezgara. Primjenjuje se progresivno u rutinskom hematoksilin-eozin (HE) bojenju i kontrastnom bojenju u imunohistokemiji. Za razliku od ostalih formulacija hematoksilina, hematoksilin po Mayeru ne sadrži alkohol što ga čini pogodnim za korištenje u reakcijama s kromogenom aminoetilkarbizolom (AEC) koji je topiv u alkoholu.

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 jezgrine DNA dajući karakteristično plavo obojenje. BioGnostov modificirani hematoksilin po Mayeru ne sadrži toksične oksidanse, već po okoliš bezopasan natrijev jodat. Uz aluminijeve ione, sadrži i nisku koncentraciju hematoksilina koja selektivno boji kromatin bez obojenja citoplazme dajući izvanredne rezultate bojenja jezgrine membrane, nukleoplazme te jezgrice.

Opis proizvoda

- **HEMATOKSILIN M** - Reagens za progresivno nuklearno bojenje u histopatologiji i kontrastno bojenje u imunohistokemiji. Sadrži optimalno oksidirani hematoksilin s natrijevim jodatom, stabilizator kloralhidrat i antioksidanse.

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 njegova supstituta na bazi alifatskih ugljikovodika poput BioClear New sredstva
- 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 za primjenu u histologiji, patologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- 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 18x18mm do 24x60mm
- Reagensi za kontrastno bojenje poput BioGnostovih otopina eozina

Priprema histoloških preparata za bojenje

- 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).
- Prosvijetliti 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.

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 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 M	3-10 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 reagesna ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
8.	Uroniti preparate u destiliranu/demineraliziranu vodu	
9.	Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina uroniti preparate u 95%-tni alkohol (Histanol 95). Ukoliko se koristi vodena otopina eozina ovaj korak preskočiti	
10.	Bojenje jednom od kontrastnih otopina eozina do optimalnog obojenja preparata	15 sekundi – 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u Eozinu Y 0,5% alkoholnom i Eozin Kontrastu znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (dovoljna je 1 minuta), dok se izlaganje preparata Eozinima Y 0,5% vodenom i 1% vodenom preporuča 2 minute, odnosno 90 sekundi	
11.	Ispiranje pod tekućom vodom Napomena: Ukoliko se koristi alkoholna otopina eozina kao kontrastno bojenje, ovaj korak preskočiti.	2 minute
12.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
13.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
14.	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 - plava boja
Citoplazma - nijanse ružičaste boje (kod bojenja Eozin Kontrastom ružičasto-crvena boja)
Kolagen, elastin, eritrociti - žuto-narančasta boja (kod bojenja Eozin Kontrastom crveno-narančasta 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 M čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na +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. Lillie, R.D. (1977): Conn's Biological Stains, 9th ed., Baltimore, Williams and Wilkens Co.
2. Mayer, P. (1891): Über das Färben mit Hämatoxzlin. Z. Wiss. Mikrosk. 8, str. 337-341.
3. Mayer, P. (1904): Notiz über Hämatein und Hämalaun, Y. Wiss. Mikrosk., 20, str. 409-4011.

HEMM-OT-X, V18, 31.03.2021., KB/IŠP

Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	Temperaturni raspon čuvanja	Broj testova u pakovanju	REF	Kataloški broj	CE	Europska sukladnost	BIOGNOST d.o.o. Međugorska 59 10040 Zagreb CROATIA www.biognost.com	CE
Pročitati priloženu uputu	Čuvati od topline i sunčevog svjetla	Vrijedi do	LOT	Broj serije		Proizvođač		
IVD Samo za *in vitro* dijagnostičku primjenu	Čuvati na suhom	Oprez lomljivo						