

EOZIN Y INSTANT, VODENI

EOZIN Y INSTANT, ALKOHOLNI

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Za pripremu 1 litre instant otopine žučkastog eozina za kontrastno bojenje citoplazme

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: EOYI-AQ-1L (1000 mL) EOYI-ALC-1L (1000 mL)

Uvod

Otopine Eozina Y redovito se koriste kao kontrastne boje hematoksilinu u histološkoj metodi bojenja, hematoksilin i eozin (HE) bojenju. Ovom metodom se radi postizanja bolje vizualizacije i diferencijacije staničnih struktura, jezgre mikroskopskih uzoraka najprije oboje hematoksilinom u plavu boju, a potom se eozinom citoplazme oboje u nekoliko nijansi ružičaste boje. Eozin Y je derivat fluoresceina te se kao boja u prahu može iskoristiti za pripravak reagensa često korištenih u histološkim, ali i citološkim metodama bojenja poput Papanicolaou metode u eksfolijativnoj citologiji ili za dobivanje Romanowsky boja. Eozin Y je anionska boja koja osim bazičnih komponenata stanica, poput citoplazme, kolagena i mišićnih vlakana, boji i eritrocite žarkom crvenom bojom. BioGnostovi Eozin Y Instant, vodeni i alkoholni pripravci vrlo se jednostavno i lako otapaju u vodi ili 70%-tnom alkoholu te su odmah spremni za upotrebu.

Opis proizvoda

- **EOZIN Y INSTANT, VODENI** – mješavina za pripremu Eozina Y Instant u vodenom mediju.
- **EOZIN Y INSTANT, ALKOHOLNI** – mješavina za pripremu Eozina Y Instant u alkoholnom mediju.

Priprema Eozina Y Instant

a) vodene otopine

1.	Napunite odgovarajući spremnik s 1 L destilirane (demi) vode
2.	Pažljivo dodati sadržaj bočice Eozin Y Instanta, vodenog.
3.	Miješati 1-2 minute do potpunog otapanja sadržaja.
4.	Koristite odmah ili čuvati u dobro zatvorenom spremniku.
5.	Čuvati Eozin Y Instant, vodeni u dobro zatvorenoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok trajanja pripremljenog Eozina Y Instant, vodenog je 4-6 mjeseci.

b) alkoholne otopine

1.	Napunite odgovarajući spremnik s 1 L 70%-tnog etilnog alkohola. Za pripremu 70%-tnog etilnog alkohola pomiješati 700 mL apsolutnog etilnog alkohola s 300 mL destilirane (demi) vode. NE KORISTITI SAMO VODU.
2.	Pažljivo dodati sadržaj bočice Eozin Y Instanta, alkoholnog.
3.	Miješati 15-60 minuta do potpunog otapanja sadržaja. Zbog zapaljivosti otapala, ne zagrijavati otopinu radi bržeg otapanja!
4.	Koristite odmah ili čuvati u dobro zatvorenom spremniku.
5.	Čuvati Eozin Y Instant, alkoholni u dobro zatvorenoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Rok trajanja pripremljenog Eozina Y Instant, alkoholnog je 4-6 mjeseci.

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 uklopavanje 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 pokrovnostakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- Reagensi za bojanje jezgri poput BioGnostovih otopina hematoksilina: Hematoksilin Instant, Hematoksilin H, Hematoksilin ML, Hematoksilin G1, Hematoksilin G2, Hematoksilin G3 i Hematoksilin M

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, progresivno

1.	Deparafinacija u ksilenom (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 Instant, Hematoksilinom M, Hematoksilinom ML, Hematoksilinom G1, G2 ili Hematoksilinom H	3-5 minuta
	Napomena: Ukoliko je došlo do taloženja u otopini ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebnog prije upotrebe filtrirati	
6.	Uroniti preparat u destiliranu/demineraliziranu vodu do prestanka otpuštanja boje s preparata	
7.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensna ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
8.	Uroniti preparate u destiliranu/demineraliziranu vodu	

9.	Bojenje Eozin Y Instant vodenom ili alkoholnom otopinom	15 sekundi – 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute.	
10.	Ispiranje pod tekućom vodom	2 minute
11.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
12.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
13.	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.

Postupak bojenja hematoksilin-eozin (HE) metodom, regresivno

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 Instant, Hematoksilinom ML, Hematoksilinom G3 ili Hematoksilinom H	4-8 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.	Diferencijacija Kiselim alkoholom	3-10 urona
	Napomena: Ovim korakom uklanja se višak hematoksilina iz jezgre i citoplazme. Ako je preparat predugo tretiran sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri.	
8.	Isprati u destiliranoj vodi	
9.	Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom	1 minuta
	Napomena: Zaustaviti plavljenje nakon što jezgre poprime plavu boju. U nedostatku Scottove otopine ili Bluing reagensna ispirati preparate pod tekućom vodom u trajanju od 3-5 minuta	
10.	Uroniti preparate u destiliranu/demineraliziranu vodu	
11.	Bojenje Eozin Y Instant vodenom ili alkoholnom otopinom	15 sekundi – 2 minute
	Napomena: Bojenjem preparata u alkoholnim otopinama eozina znatno se brže dobiva intenzivna eozinofilna boja (unutar 15 sekundi), dok se izlaganje preparata vodenim otopinama eozina preporuča 90 sekundi do 2 minute.	
12.	Ispiranje pod tekućom vodom	2 minute
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene s 10-15 urona
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	3 izmjene s 10-15 urona
15.	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

Jezgre - plava boja

Citoplazma, kolagen, mišićna vlakna, eritrociti - nijanse ružičaste boje kod bojenja Eozinom Y Instant, vodenim

- nijanse ružičaste do crvene boje kod bojenja Eozinom Y Instant, alkoholnim

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 uzorka 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

Eozin Y Instant, vodeni i alkoholni 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. Bruce-Gregorios, J.H. (1974): *Histopathologic Techniques*, IMC Press Inc., Quezon City, Philippines.
2. Cook, D.J. (2009): *Cellular Pathology: An introduction to techniques and applications*. 2nd ed., Scion Publishing Ltd., Bloxham.
3. Gurr, E. (1971): *Synthetic dyes in biology, medicine and chemistry*. Academic Press, London.

EOYI-X, V4, 12.07.2019., AK/IŠP

 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	 Vrijedi do	 LOT 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

