

KOMPLET ZA BRZO H-E BOJENJE SMRZNUTIH I PARAFINSKIH PREREZA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Ready-To-Use komplet za brzo hematoksilin-eozin bojenje smrznutih i parafinskih prereza

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: HE-RTU-100T (za 100 testiranja)

Uvod

Ready-To-Use komplet za bojenje smrznutih i parafinskih histoloških prereza H-E (hematoksilin-eozin) metodom omogućuje kompletnu obradu uzorka, u slučaju smrznutih prereza u svega nekoliko minuta od rezanja uzorka kriotomom. Postupak bojenja je vrlo pojednostavljen i gotov u svega nekoliko minuta. Komplet sadrži sve reagense potrebne za obradu uzorka – od BioFix sredstva za fiksaciju kriostatskih uzoraka i supstituta ksilena BioClear New za deparafinaciju i bistrenje parafinskih prereza, alkoholnih otopina za rehidraciju i dehidraciju tkiva, deionizirane vode pa sve do otopine hematoksilina i eozina te sredstva za plavljenje jezgri. Također sadrži i sredstvo za prekrivanje niskog viskoziteta i optimalnog indeksa loma svijetlosti BioMount New u praktičnoj ambalaži. Reagensi se nalaze u praktičnim posudama u koje se preparati direktno uranjaju te su u kutiji poredani i označeni po redu korištenja čime se smanjuje mogućnost kontaminacije reagensa prilikom bojenja. Reagensi koji se ne iskoriste prilikom bojenja smrznutih ili parafinskih prereza mogu se dodatno iskoristiti u sljedećim bojenjima. U kompletu se nalazi dodatna posuda BioFix otopine te Bluing reagensa koji se koriste nakon 50 obojenih preparata. Komplet je dovoljan za bojenje otprilike 100 preparata.

Opis proizvoda

- KOMPLET ZA BRZO H-E BOJENJE SMRZNUTIH I PARAFINSKIH PREREZA** – Komplet od 8 reagensa (u 20 posuda) za brzo H-E bojenje smrznutih i parafinskih prereza u histopatologiji, sadrži i sredstvo za trajno prekrivanje preparata.

Komplet sadrži:	Količina i volumen
BioClear New	6 x 70 mL
BioFix	2 x 70 mL
Histanol 100	3 x 70 mL
Histanol 95	3 x 70 mL
Deionizirana voda	2 x 70 mL
Hematoksilin G2	1 x 70 mL
Bluing reagens	2 x 70 mL
Eozin Y 2% alkoholni	1 x 70 mL
BioMount New Low	2 x 10 mL

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovog neutralno puferiranog formalina: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- 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 visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- CryoFix Gel, sredstvo za uklapanje uzoraka za rezanje na kriostatu

Napomena: Posude su poredane po redu i označene brojem redoslijeda. Otvoriti posude prije početka bojenja. Odmah nakon završetka bojenja posude poklopiti njihovim čepom i dobro zatvoriti kako bi se maksimalno spriječilo isparavanje reagensa.

A1) Priprema parafinskih prereza za bojenje

- Uzorak tkiva 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).
- Prosvijetliti 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 parafinskih prereza

Posudu s rednim brojem 1 preskočiti i započeti bojenje od posude broj 2 u kojoj se nalazi supstitut ksilena BioClear New. Nastaviti s bojenjem do kraja (posuda broj 18).

Deioniziranu vodu redovito mijenjati.

Korak	Broj posude		
1.	2	Deparafinacija u supstitutu ksilena (BioClear New)	1 minuta
2.	3	Deparafinacija u supstitutu ksilena (BioClear New)	1 minuta
3.	4	Deparafinacija u supstitutu ksilena (BioClear New)	1 minuta
4.	5	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona
5.	6	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
6.	7	Ispiranje u Deioniziranoj vodi	10 urona
7.	8	Bojenje Hematoksilin reagensom	1-3 minute
8.	9	Ispiranje u Deioniziranoj vodi	10 urona
9.	10	Plavljenje jezgri Bluing reagensom	1 minuta
		Napomena: kako bi se očuvao alkalinitet otopine, nakon svakih 50 preparata zamijeniti korišten Bluing reagens novim koji se nalazi u kompletu	
10.	11	Dehidrirati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
11.	12	Bojenje Eozin reagensom	5-15 sekundi
		Napomena: ukoliko je intenzitet Eozin reagensa prejak, može se razrijediti s 80-85%-tnim etanolom	

12.	13	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
13.	14	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona
14.	15	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona
15.	16	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	10 urona
16.	17	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	10 urona
17.	18	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	1 minuta

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti BioMount New sredstvo za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla.
Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgre - plavo-ljubičasta boja
Citoplazma, kolagen, elastin, eritrociti - nijanse crveno-ružičaste boje

A2) Priprema smrznutih prereza za bojenje

- Smrznuti tkivo što je brže moguće kako bi se izbjeglo formiranje artefakata i distorzije: uklopiti uzorak tkiva u CryoFix Gel i smrznuti
- Namjestiti smrznuti blok na kriostat i napraviti rezove. Optimalna temperatura rezanja na kriostatu je -5 do -6°C za uzorke deblje od 15 µm. Tanji rezovi zahtijevaju nižu temperaturu.
- Rez montirati na predmetno staklo i odmah krenuti u postupak bojenja (uroniti u BioFix – posuda broj 1).

Postupak bojenja smrznutih prereza

Započeti bojenje od posude broj 1 u kojoj se nalazi BioFix, a preskočiti posude broj 2, 3, 4, 5 i 6. Nakon posude broj 1 bojenje nastaviti od posude broj 7. Nastaviti s bojenjem do kraja (posuda broj 18).

Deioniziranu vodu redovito mijenjati.

Korak	Broj posude		
1.	1	Fiksacija u BioFix otopini	10 sekundi
		Napomena: nakon svakih 50 preparata zamijeniti korištenu BioFix otopinu novom koja se nalazi u kompletu	
2.	7	Ispiranje u Deioniziranoj vodi	10 urona
3.	8	Bojenje Hematoksilin reagensom	1-3 minute
4.	9	Ispiranje u Deioniziranoj vodi	10 urona
5.	10	Plavljenje jezgri Bluing reagensom	1 minuta
		Napomena: kako bi se očuvao alkalinitet otopine, nakon svakih 50 preparata zamijeniti korišten Bluing reagens novim koji se nalazi u kompletu	
6.	11	Dehidrirati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
7.	12	Bojenje Eozin reagensom	5-15 sekundi
		Napomena: ukoliko je intenzitet Eozin reagensa prejak, može se razrijediti s 80-85%-tnim etanolom	
8.	13	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	10 urona
9.	14	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona
10.	15	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	10 urona
11.	16	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	10 urona
12.	17	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	10 urona
13.	18	Bistrenje u supstitutu ksilena (BioClear New)	1 minuta

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti BioMount New ili BioMount New Low sredstvo za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla.
Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgre - plavo-ljubičasta boja
Citoplazma, kolagen, elastin, eritrociti - nijanse crveno-ružičaste boje

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.

Skладиštenje, stabilnost i rok valjanosti

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

- Gill, G.W., Frost, J.K, Miller, K.A. (1974): A new formula for half-oxidized hematoxylin formula that neither overstains nor requires differentiation. *Acta Cytol.* 1974;18:300-301.
- Gill, G.W. (2006): Enviro-Pap: an environmental friendly, economical, and effective Pap stain. *Lab. Med.* 37: str. 105-108.
- Papanicolaou, G.N. (1954): A new procedure for staining vaginal smears. *Science.* 95: str. 438-439.
- Sheehan, D.C. i Hrapchak, B.B. (1980): *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd ed., St. Louise: CV Mosby Co

HE-RTU-100T, V5, 10.07.201., AK/ISP

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Oprez lomljivo

	Kataloški broj		Europska sukladnost
	Broj serije		Proizvođač

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

