

VERHOEFF KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od šest reagensa za bojenje elastičnih vlakana

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: VER-100T (za 100 testiranja)

VER-K-100 (6x100 mL)

Uvod

Verhoeff komplet koristi se prvenstveno za bojenje elastina, međutim mogu se obojiti i mišićna vlakna, kao i kolagen. Elastična vlakna sastavljena su od polimera elastina i elastičnih mikrofibrila koji zajedno tvore trodimenzionalnu mrežu u izvanstaničnom matriksu unutar vezivnog tkiva (u koži, elastičnoj hrskavici, vaskularnim zidovima, plućnom tkivu i u glasicama). Može se iskoristiti kao zamjena za Weigert-Van Gieson komplet. Vizualizacija elastičnog tkiva posebno je korisna kod slučajeva emfizema (atrofije elastičnog tkiva), arterioskleroze (stanjivanje i gubitak elastičnih vlakana) i brojnih drugih bolesti krvnožilnog sustava.

Opis proizvoda

- **VERHOEFF KOMPLET** – Komplet za bojenje elastičnih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (VER-100T)	6 x 100 mL (VER-K-100)
Hematoksilin, Verhoeff A	30 mL (HEMV-OT-30)	100 mL (HEMV-OT-100)
Feri reagens, Verhoeff B	30 mL (FRV-OT-30)	100 mL (FRV-OT-100)
Otopina joda, Verhoeff C	30 mL (JODV-OT-30)	100 mL (JODV-OT-100)
Reagens za diferencijaciju, Verhoeff	30 mL (RDV-OT-30)	100 mL (RDV-OT-100)
Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina	30 mL (NT5-OT-30)	100 mL (NT5-OT-100)
Fuchsin Acid Van Gieson reagens	30 mL (FAG-OT-30)	100 mL (FAG-OT-100)

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 uklopavanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus, BioWax 52/54, 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 DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- 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
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Kako ne bi došlo do isparavanja reagensa s preparata, preporučamo korištenje komorice/posudice za inkubaciju.

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 histoloških preparata

a) kompletom za 100 testiranja (VER-100T)

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.	Nakapati 7 kapi Hematoksilina, Verhoeff A, 3 kapi Feri reagensa, Verhoeff B i 3 kapi Otopine joda, Verhoeff C. Staviti preparat u inkubacijsku posudicu kako bi se spriječilo isparavanje. Napomena: dužim vremenskim izlaganjem (do 60 minuta) pojačava se intenzitet obojenja	30-60 minuta
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Nakapati Reagens za diferencijaciju, Verhoeff (≥ 5 kapi) i diferencirati preparat Napomena: nakon diferencijacije kratko isprati preparat u destiliranoj (demi) vodi i mikroskopski provjeriti crno obojenje elastina na preparatu. Ukoliko je potrebno, ponoviti diferencijaciju	1-2 minute
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 5%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	1 minuta
10.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
11.	Nakapati Fuchsin Acid Van Gieson reagens (≥ 5 kapi) Napomena: Fuchsin Acid Van Gieson je kontrastna boja i dužim izlaganjem (do 5 minuta) postiže se intenzivnije pozadinsko obojenje	3-5 minuta
12.	Brzo dehidrirati kroz 95% i 100%-tni alkohol (Histanol 95 i Histanol 100) Napomena: što je preparat duže u alkoholu, više se ispire žuta boja	
13.	Bistrenje u ksilenu (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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

*Da bi se izbjeglo blijeđenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX ili BioMount DPX New sredstvom.

b) kompletom sa šest reagensa od 100 mL (VER-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 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.	Pomiješati 20 mL Hematoksilina, Verhoeff A, 8 mL Feri reagensa, Verhoeff B i 8 mL Otopine joda, Verhoeff C. Uroniti preparat u inkubacijsku posudicu poklopiti kako bi se spriječilo isparavanje.	30-60 minuta
	Napomena: dužim vremenskim izlaganjem (do 60 minuta) pojačava se intenzitet obojenja. Nakon korištenja pripremljenu otopinu baciti	
6.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Uroniti u Reagens za diferencijaciju, Verhoeff i diferencirati preparat	1-2 minute
	Napomena: nakon diferencijacije kratko isprati preparat u destiliranoj (demi) vodi i mikroskopski provjeriti crno obojenje elastina na preparatu. Ukoliko je potrebno, ponoviti diferencijaciju	
8.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Uroniti u Natrijev tiosulfat, 5%-tnu otopinu	1 minuta
10.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
11.	Uroniti u Fuchsin Acid Van Gieson reagens	3-5 minuta
	Napomena: Fuchsin Acid Van Gieson je kontrastna boja i dužim izlaganjem (do 5 minuta) postiže se intenzivnije pozadinsko obojenje	
12.	Brzo dehidrirati kroz 95% i 100%-tni alkohol (Histanol 95 i Histanol 100)	
	Napomena: što je preparat duže u alkoholu, više se ispire žuta boja	
13.	Bistrenje u ksilenu (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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

*Da bi se izbjeglo blijeđenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX ili BioMount DPX New sredstvom.

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

Ljubičasto crna boja – elastična vlakna

Crno-smeđa boja – jezgre

Nijanse crveno ružičaste boje – kolagen

Žuta boja – vezivno tkivo

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

Verhoeff komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. 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. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.
3. Van Gieson, I. (1889): Laboratory notes of technical methods for the nervous system, New York Med. J., 50: 57-60

VER-X, V5, 09.12.2021., KB/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

