

WARTHIN STARRY KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od pet reagensa za bojenje *Helicobacter pylori*

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: WS-12T (za bojenje 12-48 preparata)

Uvod

BioGnostov Warthin Starry komplet jednostavno u nekoliko koraka omogućuje bojenje histoloških preparata i vizualizaciju bakterije *Helicobacter pylori*. Posebnost kompleta je da sadrži 12 posudica u kojima se nalazi želatina, a koje ujedno služe za praktičnu inkubaciju i bojenje preparata. Dodavanjem ostalih reagensa nastaje aktivna razvojna otopina u koju se uranjaju preparati i istovremeno je moguće obojiti 1 do 4 preparata. Princip bojenja Warthin Starry kompleta temelji se na redukciji srebrnog nitrata do srebra pomoću hidrokinona. Nastalo srebro taloži se na površinu bakterije *Helicobacter pylori* te na mikroskopskoj slici preparata bakterije budu obojene tamno smeđe do crne, stanice žuto-smeđe, a jezgre smeđe. Bakterije se mogu detektirati u sluzi površinskog epitela, u apikalnim žlijezdama želuca te u mukozi želuca.

Opis proizvoda

- **WARTHIN STARRY KOMPLET** – Komplet za bojenje bakterije *Helicobacter pylori* u histološkim parafinskim prerezima

Komplet sadrži:	12 testiranja za 12-48 preparata (WS-12T)	Temperatura skladištenja:
Kisela otopina	500 mL (KOT-OT-500)	15-25°C
Srebrni nitrat, kristali	5 g (SNP-P-5)	15-25°C
Srebrni nitrat, WS otopina	3 mL (SNWS-OT-3)	2-8°C
Želatina, otopina (u transportnoj / inkubacijskoj posudici)	12 x 8 mL (GEL-OT-8)	2-8°C
Hidrokinon, otopina	5 mL (HQ-OT-5)	2-8°C

UPOZORENJE:

Kako bi postigli što bolje rezultate slijedite ova pravila:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu visoke čistoće **bez** imalo klora
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dodirivati preparate ili biti u kontaktu s otopinama tijekom bojenja metalnim predmetima (škarice, pincete i sl.)

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).
- 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 VitoGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja histoloških preparata

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.	Priprema impregnacijske otopine : u bocu s Kiselom otopinom dodati Srebrni nitrat, kristale i otopiti ih miješanjem rotiranjem boce. Napomena: pripremljena impregnacijska otopina stabilna je minimalno godinu dana ukoliko se drži na temperaturi od 2-8°C. Prije svake upotrebe potrebno je otopinu temperirati na sobnu temperaturu (samo volumen koji će se koristiti za bojenje). S vremenom se na dnu otopine mogu pojaviti sitne crne točkice koje ne ometaju bojenje. Ne preporučamo filtraciju otopine jer nečistoće iz filter papira mogu zagaditi otopinu.	
6.	Uliti 40 mL impregnacijske otopine u posudu za bojenje (preporučamo Coplin tip posudice) Napomena: jednom korišteni impregnacijsku otopinu više ne koristiti	
7.	Impregirati 1 do 4 preparata uranjanjem u impregnacijsku otopinu. Inkubirati na tamnom mjestu na 50 °C	40 minuta
8.	Ohladiti preparate na sobnu temperaturu	
9.	Vrlo važno: Tijekom posljednjih 12 minuta inkubacije u impregnacijskoj otopini pripremiti razvojnu otopinu . Zagrijati posudicu sa želatinom u transportnoj / inkubacijskoj posudici na 50°C tijekom 10 minuta. U posudicu sa otopljenom želatinom dodati 4 kapi otopine Srebrni nitrat, WS te kratko promiješati rotiranjem posudice. Nakapati 7 kapi Hidrokinon, otopine i ponovno promiješati posudicu.	
10.	Bojati preparate uranjanjem u posudicu s razvojnom otopinom i inkubirati na 50°C u uspravnom položaju. Makroskopski provjeravati preparate i prekinuti inkubaciju nakon što se preparati oboje žuto smeđom bojom	5-10 minuta
11.	Dobro isprati u toploj tekućoj vodi	2 minute
12.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
15.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
16.	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.

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.

Bojenje preparata može se provesti i pomoću mikrovalne pećnice gdje je vrijeme inkubacije i do četiri puta kraće, ali zbog različitih snaga mikrovalnih pećnica, savjetujemo metodu prethodno standardizirati.

Rezultat

Crna boja – *Helicobacter pylori*

Smeđe-žuta boja - pozadina

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

Reagensi Warthin Starry kompleta imaju različite temperaturne režime čuvanja, označenim na njihovim etiketama. Reagense čuvati na propisanim temperaturama, držati na suhom, 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.

WS-12T, V10, 28.02.2012., IŠP/VR

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

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

