

FERI REAGENS, WEIGERT B

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu kod bojenja u Hematoksilin W kompletu UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: FR-OT-100 (100 mL) FR-OT-500 (500 mL) FR-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Hematoksilin po Weigertu koristi se većinom u kombinaciji s raznim specijalnim (trikromnim) bojama gdje zahvaljujući otpornosti na kisele otopine zadržava boju te boji stanične jezgre. Za razliku od standardnih otopina hematoksilina koje se koriste u histologiji, poput hematoksilina po Harrisu, Mayeru, Mayer-Lillieu i Gillu, hematoksilin po Weigertu sadrži ione željeza koji stvaraju otpornost na kisele otopine i nagle promjene pH vrijednosti. Trikromne metode u kojima se najčešće koristi hematoksilin po Weigertu su: AFOG, Gomori Trichrome, Masson-Goldner Trichrome, Masson Trichrome, Van Gieson Trichrome, Elastika-van Gieson te Weigert-Van Gieson. Većina navedenih metoda primjenjuje se za bojenje mišićnih i vezivnih vlakana. S obzirom da Weigert hematoksilin nije dugoročno stabilan, priprema se miješanjem dviju otopina neposredno prije korištenja. Hematoksilin, Weigert A je prva otopina, a Feri reagens je druga otopina čijim se miješanjem dobiva funkcionalna radna otopina Weigert hematoksilina.

Opis proizvoda

- **FERI REAGENS, WEIGERT B** – vodena otopina Željezovog nitrata nonahidrata uz dodatak kiseline

Primjer primjene Feri reagens, Weigert B kao komponente Hematoksilin W kompleta

Ostali preparati i reagensi potrebni 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 uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus, 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 C, BioMount Aqua
- 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 pokrovnna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostov reagens: Hematoksilin, Weigert A (kat. broj: HEMA-OT-100, -OT-500, HEMA-OT-1L)

Priprema radne otopine

Hematoksilin Weigert radna otopina

- Pomiješati Hematoksilin, Weigert A i Feri reagens, Weigert B u omjeru 1:1. Hematoksilin Weigert radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Otopinu baciti nakon što jezgre prilikom bojenja poprime smeđu boju.

Priprema histoloških preparata za bojanje

- 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).
- Prosvjetliti uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (BioWax Plus, 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 Hematoksilin W kompletom

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.	Uroniti u Hematoksilin Weigert radnu otopinu	5 - 10 minuta
	Napomena: Napomena: za jače obojene jezgre inkubirati preparate 10 minuta u Hematoksilin Weigert radnoj otopini	
6.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
7.	Bojenje kontrastnim reagensom (ovisno o tipu kompleta specijalnih boja koja se primjenjuje)	
8.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
9.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
10.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
11.	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 – plavo-ljubičasta boja ukoliko se na preparatu nalazi samo Weigert hematoksilin. U kombinaciji sa specijalnim kompletima, jezgre poprimaju plavo crnu boju

Napomena

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojanje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

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

Feri reagens, Weigert B čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. 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. Lillie, R.D. (1945): Studies on selective staining of collagen with acid aniline dyes, J. Technical Methods, 25:1
3. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.
4. Van Gieson, I. (1889): Laboratory notes of technical methods for the nervous system, New York Med. J., 50: 57-60

FR-X, V1, 27.04.2023., KB/IŠP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 °C 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	 Oprez lomljivo		

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

