



Институт за онкологију и радиологију Србије

Пастерова 14, Београд, Србија

+381 11 2067 100


iors@ncrc.ac.rs www.ncrc.ac.rs

РЕПУБЛИКА СРБИЈА
ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ
26-123
21 SEP 2015 20 год
БЕОГРАД, Пастерова 14

ПРОЦЕДУРА ХИСТОХЕМИЈСКО БОЉЕЊЕ

Ознака процедуре	П.ПАТ.06
Верзија	01
Датум усвајања	21.09.2015.
Аутори процедуре	Др Мр сц мед Силвана Лукић Олга Здјелар, ВМЛТ
Носилац процедуре	Др сц мед. Зорка Миловановић, НС
Процедуру одобрио	Проф др Радан Џодић



 ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ	Назив процедуре: Хистохемијско бојење		Ознака: П.ПАТ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 2 од 5

1. ДЕФИНИЦИЈА И СКРАЋЕНИЦЕ

1.1. Дефиниција

Специјална хистохемијска бојења се односе на доказивање присуства/одсуства масти, еластичних влакана, ензима, неутралних и киселих муцина, пигмената, гликогена и различитих целуларних елемената.

1.2. Скраћенице

ИОРС	Институт за онкологију и радиологију Србије
ЛТ	Лабораторијски техничар
ПХ	Патохистолошки
ХХ	Хистохемија
ДрП	Доктор патолог
ХЕ	Хематоксилин - Еозин
мл	Милилитар

2. ПРЕДМЕТ

Спровођење процедуре ХХ бојења коју технички спроводи ЛТ, а врсту бојења и анализу спроводи ДрП.

3. ПОДРУЧЈЕ ПРИМЕНЕ

Упутство се спроводи у Одељењу патологије Службе патологије и цитологије ИОРС-а.

4. ОДГОВОРНОСТИ


ДрП одређује врсту ХХ бојења, а ЛТ је одговоран за технички део процедуре.

5. ОПИС ПРОЦЕДУРЕ

5.15. ПРОЦЕДУРА ХИСТОХЕМИЈСКОГ БОЈЕЊА

* ДрП одређује репрезентативни калуп/калупе из којег ће се радити ХХ бојење.

* ДрП предаје у лабораторију ЛТ папир на коме је уписао ПХ број парафинског блока из кога ће се радити ХХ бојење и уписује врсту бојења. У случају консултативног прегледа, поред папира, ДрП доноси и репрезентативни парафински блок/блокове.

 <p>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</p>	Назив процедуре: Хистохемијско бојење		Ознака: П.ПАТ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 3 од 5

* ЛТ врши припрему предметних стакала тако што обичном оловком свако предметно стакло обележи пратећим ПХ бројем, годином и ознаком (ако постоји) и врстом ХХ методе.

* ЛТ поступа по процедури 5.7, а потом приступа ХХ бојењу.

Рецептуре ХХ бојења:


PAS (Periodic acid schiff) бојење:

1. Ксилол – 15 минута.
2. 100% алкохол – 10 минута.
3. 96% алкохол – 10 минута.
4. Дестилована вода – кратко испрати.
5. 1% перјодна киселина – 5 минута.
6. Дестилована вода – кратак млаз.
7. Загрејан шиф – 10 минута.
8. Текућа млака вода – 5 минута.
9. Хематоксилин – 1-5 минута.
10. Текућа млака вода – 5 минута.
11. 96% алкохол – 5 минута.
12. 100% алкохол – 5 минута.
13. Ксилол – 5 минута.

Ретикулин бојење:

1. Ксилол – 15 минута.
2. 100% алкохол – 10 минута.
3. 96% алкохол – 10 минута.
4. Дестилована вода – кратко испрати.
5. 1% К-перманганат – 2 минута.
6. Текућа вода – 3 минута.
7. 2% фери-амонијум сулфат – 1 минут.
8. Текућа вода – 3 минута.
9. Сребро-нитрат (прави се увек свеж пред употребу) – 10 минута.
10. Дестилована вода – кратак малаз.
11. 10% формалин – 5 минута.
12. Текућа вода – 3 минута.
13. 0,2% злато-хлорид – 10 минута.
14. Дестилована вода – кратак малаз.
15. 2% К-метаби сулфит – 1 минут.
16. Дестилована вода – кратак малаз.
17. 2,5% На-тиосулфат – 1 минут.
18. Текућа вода – 2 минута.
19. 96% алкохол – 5 минута.
20. 100% алкохол – 5 минута.
21. Ксилол – 5 минута.

Амонијачни раствор сребро-нитрата:

 <p>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</p>	Назив процедуре:		Ознака:
	Хистохемијско бојење		П.ПАТ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 4 од 5

1. У мензуру од 100 мл сипати 10% раствор сребро-нитрата – 10 мл.
2. 10% КОН (или 40% NaOH) – 5 капи (искључиво пипетом од 1мл).
3. Створени црни талог иститрирати концентрованим амонијаком док се раствор не обезбоји.
4. Јако пазити да се не претитрира, боље је додати мање амонијака да остане неколико зрнаца талоба који се могу филтрирањем отклонити.
5. Допунити мензуру до 20 мл дестилованом водом.

Giemsa бојење:


1. Ксилол – 15 минута.
2. 100% алкохол – 10 минута.
3. 96% алкохол – 10 минута.
4. Дестилована вода – кратко испрати.
5. May-Grinvald – 15 минута.
6. Без испирања прелити Gimsa – 15 минута.
7. 1% сирћетна киселина – само испрати
8. 96% алкохол – 5 минута.
9. 100% алкохол – 5 минута.
10. Ксилол – 5 минута.

Masson – Fontana бојење:

1. Луголов раствор – 10 минута.
2. 5% На-тиосулфат – 30 секунди.
3. Дестилована вода – испрати.
4. Амонијачни раствор сребро-нитрата (прави се увек свеж пред употребу) – 15 минута.
5. Текућа вода – 1 минут.
6. 0,2% злато – хлорид – 15 минута.
7. Текућа вода – 2 минута.
8. 5% На-тиосулфат – 2 минута.
9. Текућа вода – 2 минута.
10. 2% light-green – 5 секунди.
11. Текућа вода – испрати.
12. 96% алкохол – кратко испрати.
13. 100% алкохол – 5 минута.
14. Ксилол – 5 минута.

Амонијачни раствор сребро-нитрата:

1. У мензуру од 100 мл сипати 5мл 10% сребро-нитрата.
 2. Пипетом од 2мл додавати амонијак кап по кап док светло браон боја раствора не постане опалесцентна (благо сивкаста).
 3. Додати још 4мл дестиловане воде.
- * По завршеном XX бојењу, ЛТ поступа по процедури 5.9.
* Овако спремна предметна стакла ЛТ ређа на мапе и носи ДрП на микроскопирање.
* ДрП ПХ дијагнозу након примењеног XX бојења врши по процедури 5.17.1.

 <p>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</p>	Назив процедуре:		Ознака:
	Хистохемијско бојење		П.ПАТ.06
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 5 од 5

МЕТОДЕ, МЕДИЦИНСКИ ПОТРОШНИ МАТЕРИЈАЛ, ХЕМИКАЛИЈЕ, АПРАТИ

МЕТОДЕ: PAS, Ретикулин, Giemsa и Masson fontana бојења.

Медицински потрошни материјал: Рукавице, папирна вата, предметно стакло, покровно стакло.

Хемикалије: 10% формалин, 96% алкохол, 100% алкохол, ксилол, хистохемијске боје, синтетски медијум за покривање предметних стакала, раствори средстава за дезинфекцију руку, инструмената и површина.

Референце:

1. Хистолошке и хистохемијске методе, dr Melita Švob, Sarajevo, 1973.
2. Bancroft JD, Layton C, Suvarna SK. Theory and practice of histological techniques. Seventh edition, Churtchil&Livingstone. 2007.