



## Институт за онкологију и радиологију Србије


Пастерова 14, Београд, Србија  
+381 11 2067 100  
[iors@ncrc.ac.rs](mailto:iors@ncrc.ac.rs) [www.ncrc.ac.rs](http://www.ncrc.ac.rs)

РЕПУБЛИКА СРБИЈА  
ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ  
Бр. 26-146  
**21 SEP 2015** 20  
БЕОГРАД, Пастерова

# ПРОЦЕДУРА ИМУНОХИСОХЕМИЈСКО (HER-2) БОЈЕЊЕ - ИМУНОСТЕЈНЕР

Ознака процедуре	<b>П.ПАТ.29</b>
Верзија	01
Датум усвајања	21.09.2015.
Аутори процедуре	Др Ирена Јованић Олга Здјелар, ВМЛТ
Носилац процедуре	Др сц мед. Зорка Миловановић, НС
Процедуру одобрио	Проф др Радан Џодић



 <b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b>	Назив процедуре: <b>Имунохистохемијско (HER-2) бојење - имуностејнер</b>		Ознака: <b>П.ПАТ.29</b>
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 2 од 5

## 1. ДЕФИНИЦИЈЕ И СКРАЋЕНИЦЕ

### 1.1. Дефиниција

Имунохистохемијско бојење - процес локализације антигена у ћелијама ткивних пресека фиксираних у формалину и укалупљених у парафину.

Имуностејнер – апарат за аутоматизовано имунохистохемијско бојење и „in situ“ хибридизацију.

Примарно антителио - антителио које реагује са антигенима ткива фиксираних у формалину и укалупљених у парафину.

### 1.2. Скраћенице

ИХХ	Имунохистохемија
Ат	Антителио
ИОРС	Институт за онкологију и радиологију Србије
ЛТ	Лабораторијски техничар
ПХ	Патохистолошки
Аг	Атиген
ДрП	Доктор патолог
УП	Упут за патологију

## 2. ПРЕДМЕТ

Овом процедуром је обухваћен поступак ИХХ бојења у имуностејнеру; одношење ИХХ обојених предметних стакала ДрП који је индиковао бојење.

## 3. ПОДРУЧЈЕ ПРИМЕНЕ

Упутство се спроводи у делу лабораторије за ИХХ Службе патологије и цитологије ИОРС-а.


## 4. ОДГОВОРНОСТИ

ЛТ је одговоран за спровођење процедуре.

## 5. ОПИС ПРОЦЕДУРЕ

### 5.21. ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО (HER-2) БОЈЕЊЕ - ИМУНОСТЕЈНЕР

Имунохистохемијско (HER-2) бојење у апарату VENTANA BENCH MARK GX:

 <p><b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b></p>	Назив процедуре:		Ознака:
	<b>Имунохисохемијско (HER-2) бојење - имуностејнер</b>		<b>П.ПАТ.29</b>
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 3 од 5

ЛТ припрема апарат:

А) Испразнити посуду за отпадни материјал

1. Извадити бочицу и одврнути њен поклопац.

2. Испразнити бочицу.

3. Заменили бочицу, завртањем причврстити поклопац и притиснути бочицу назад у њено место.

Б) Поново напунити системску бочицу, у зависности од потребе:

4. За скидање системске бочице, притиснути патент браву да се ослободи, потом извадити бочицу напоље.

Ц) За постављање системске бочице:

5. Поново напунити бочицу са истим производом.

6. Ставити бочицу у отвор и притиснути унапред, све док се не осети или чује да је шкљоцнула.

7. Притиснути „икону“ за етикете предметних стакала која се налази на дну главног екрана.

8. У оквиру Вентана система за обележавање етикетом притиснути „икону“ за протоколе.

9. У оквиру листе за селектовање протокола (енг. Select Protocols list) селектовати (притиснути) протокол HER- 2 (ИХХ).

10. У пољу за копије унети број етикета који треба да се одштампа.

11. Притиснути „икону“ за додавање (енг. Add icon) да би се копијала одређена ставка на листу етикета за штампање.

12. Притиснути „икону“ за затварање/штампање (енг. Close/Print icon).

13. Селектовати прву етикету у листи за штампање етикета (енг. Labels to Print list).

Унети податке у одговарајућа поља (у горње поље унети ПХ број и годину под којом се ради HER-2 бојење, а у доње поље унети ПХ број, годину и ознаку (ако је има) парафинског блока ткива из кога ће се радити HER-2 бојење). Потом притиснути „икону“ за штампање (енг. Print icon). Исту радњу поновити за сваку етикету.

14. Када су етикете одштампане, притиснути „икону“ за затварање (енг. Close icon).

15. Притиснути „икону“ за унос (енг. Feed icon) на штампачу да пређете на последњу етикету. Повући етикету на доле и уредно је отцепити са ролне.

16. По завршетку процедуре 5.19 припремљена позитивно наелектрисана предметна стакла са ткивним пресецима обележити етикетама – ручно залепити етикете на предметна стакла:

- Скинути лепљиву полеђину са заштитног крилца.

- Пресавити крилце преко етикете.


- Поравнати површину крилца тако да боље пријања, потом одвојити етикету од њене полеђине.

- Нацентрирати етикету на пескирану страну предметног стакла и поравнати површину етикете тако да боље пријања. Етикета не треба да прелази преко ивица предметног стакла.

ЛТ убацује реагенсе:

17. Склонити корито за реагенсе.


18. Отворити клизна врата.

 <p><b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b></p>	Назив процедуре:		Ознака:
	<b>Имунохисохемијско (HER-2) бојење - имуностејнер</b>		<b>П.ПАТ.29</b>
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 4 од 5

19. Притиснути на доле један угао горњих врата да би се ослободила патент бравица, потом предња врата повући у напред да би се она отворила.
  20. Подићи горња врата.
  21. Ручно заротирати вртешку за предметна стакла до одговарајуће позиције.
  22. Свако појединачно предметно стакло ставити на носач за предметно стакло са грејачем, заједно са етикетом окренутом на горе и на споља, водећи рачуна да предметно стакло буде смештено између дирека.
  23. Затворити горња клизна врата.
  24. Ставити диспензере за реагенс у корито за реагенсе.
  25. Скинути све затвараче са диспензера и ставити на носач за затвараче.
  26. Гурнути диспензер у отвор све док не шкљоцне у своје место.
  27. Поставити корито за реагенсе на вртешку за реагенсе. Лагано заротирати да би се проверило да је безбедно постављено.
  28. Затворити предња клизна врата, проверити да ли језичак на вратима належе преко основе корита за реагенсе.
- ЛТ стартује серију извођења:
29. На компјутеру притиснути „икону“ за серију извођења (енг. Run icon) која се налази на главном екрану.
  30. У контролној листи опције пре радног циклуса (енг. Pre-Run checklist), притиснути последња два квадрата и укуцати број убачених плочица.
  31. Притиснути „икону“ за стартовање серије извођења (енг. Start run icon).
  32. Светло за рад је жуте боје – значи почетак радног процеса:

### **Procedure: BMK ultraView DAB Par (Protocol Summary)**

- 1 Deparaffinization [Selected] - депарафинизација (одабрати)
  - 2 Cell Conditioning [Selected] – кондиционирање ћелија (одабрати)
  - 3 Conditioner #1 [Selected] – кондиционер #1 (одабрати)
  - 4 Mild CC1 [Selected] – благи третман CC1 (одабрати)
  - 5 Antibody [Selected] – Ат (одабрати)
  - 6 Apply One Drop of [PREP KIT 1] ( Antibody ), and Incubate for [32 Minutes] – апликовати једну кап [PREP KIT 1] ( Ат ) – инкубирати 32 минута
  - 7 Counterstain [Selected] – контрастно бојење (одабрати)
  - 8 Apply One Drop of [HEMATOXYLIN II] ( Counterstain ), Apply Coverslip, and Incubate for [30 Minutes] - апликовати једну кап [HEMATOXYLIN II] ( Контрастна боја ) – инкубирати 30 минута
  - 9 Post Counterstain [Selected] – пост-контрастно бојење (одабрати)
  - 10 Apply One Drop of [BLUING REAGENT] ( Post Counterstain), Apply Coverslip, and Incubate for [2 Minutes] - апликовати једну кап [BLUING REAGENT] ( Пост-контрастна боја ) - инкубирати 2 минута
33. Уколико је потребна ручна апликација, систем ће направити паузу и на то упозорити ЛТ.
  34. Склонити корито за реагенсе и отворити клизна врата.

 <b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b>	Назив процедуре: <b>Имунохисохемијско (HER-2) бојење - имуностејнер</b>		Ознака: <b>П.ПАТ.29</b>
	Датум: 21.09.2015.	Верзија: 01	Страна: 5 од 5

35. Разлити реагенс на свако предметно стакло. Пипету држати под углом од 45 степени. Убацити наставак тако да улази у површину течности која се налази на предметном стаклу. Пажљиво разливати да би се избегло проливање реагенса преко ивица предметних стакала. Водити рачуна о томе да се течност не повуче назад у пипету.

36. Затворити горња клизна врата, заменити корито за реагенсе на вртешци и затворити предња клизна врата, водећи рачуна да језичак врата належе преко основе корита за реагенсе.

37. Притиснути Вентана „икону“ на контролној табли инструмента да би се наставила серија извођења.

38. По завршетку серије извођења, систем упозорава ЛТ и пали се светло на „икони“ за искључивање (енг. Sign off icon), која се налази на дну главног екрана.

39. ЛТ вади завршена обојена предметна стакла и ређа их у пластични хоризонтални носач.

40. Притиснути „икону“ за искључивање (енг. Sign off icon).

41. ЛТ завршена обојена предметна стакла у пластичном хоризонталном носачу испра у раствору детерџента који се налази у пластичној чинији.

42. Затим их испира у текућој па у дестилованој води.

43. Испрана обојена предметна стакла ређа у вертикалне кивете.

44. ЛТ поступа по процедурама 5.20.33 до 5.20.41.

## **МЕТОДЕ, МЕДИЦИНСКИ ПОТРОШНИ МАТЕРИЈАЛ, ХЕМИКАЛИЈЕ, АПАРАТИ**

**Метода:** ИХХ HER-2 бојење – имуностејнер.

**Медицински потрошни материјал:** Рукавице, покровно стакло и папирна вата.

**Хемикалије:** 96% алкохол, 100% алкохол, ксилол, синтетски медијум за покривање предметних стакала и хемикалије за имуностејнер.

**Апарати:** Имуностејнер VENTANA BENCH MARK GX

### **Референце:**

1. Dabbs DJ. Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications. Third edition. Saunders.
2. [www.nordiqc.org](http://www.nordiqc.org)
3. Фабричко упутство за имуностејнер VENTANA BENCH MARK GX.