

# FAST GREEN F.C.F. KONTRAST REAGENS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Reagens za zeleno kontrastno bojenje u Grocott kompletu

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: FGKR-OT-100 (100 mL)

#### Uvod

Grocott komplet koristi se u histologiji za vizualizaciju gljivica, određenih patogenih organizama, bazalnih membrana i općenito histoloških argentaofilnih struktura. Postupak bojenja počinje otopinom perjodne kiseline kojom se 1,2-glikoli oksidiraju do aldehida. Tijekom inkubacije u srebro- metenamin-boratom radnoj otopini, aldehidi se reduciraju te istovremeno uzrokuju redukciju srebrnih iona do metalnog srebra, koje će se na preparatu pojaviti kao crno obojene strukture. Slijedi toniranje preparata otopinom zlatnog klorida koje dodatno pojačava obojenost ciljnih struktura (gljivica, bazalnih membrana i sl.) te smanjuje pozadinsko obojenje. Ispranjem preparata otopinom natrijevog tiosulfata uklanja se višak nevezanih srebro-zlata spojeva. Na kraju se preparati izlažu Fast Green F.C.F. boji koja oboji pozadinske strukture stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast smeđe do crno obojenim ciljnim strukturama.

#### Opis proizvoda

- FAST GREEN F.C.F. KONTRAST REAGENS – reagens za kontrastno bojenje u Grocott kompletu

#### Primjer primjene Fast Green F.C.F. kontrast reagensa kao komponente Grocott kompleta

Komplet sadrži:	5 x 100 mL + 3 x 250 mL (GRC-K-100)
Perjodna kiselina, 1%-tna otopina	100 mL (PK1-OT-100)
Srebrni nitrat, otopina	100 mL (SN-OT-100)
Metenamin, otopina	250 mL (MET-OT-250)
Boraks, otopina	2x250mL (BO-OT-250)
Zlatni klorid, 0.2%-tna otopina	100 mL (ZK02-OT-100)
Natrijev tiosulfat, 2%-tna otopina	100 mL (NT2-OT-100)
Fast Green F.C.F. kontrast reagens	100 mL (FGKR-OT-100)

#### 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.)
- prije korištenja sve reagense ugrijati na sobnu temperaturu (držati na sobnoj temperaturi barem dva sata prije početka bojenja)
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat

#### Priprema srebro-metenamin-boratom radne otopine volumena 120 mL (optimalno za Schifferdecker posudu):

U 72 mL dvostruko destiliranu (demi) vode dodati 20 mL Metenamina, otopine i 22 mL Boraksa, otopine. Potom postepeno, uz miješanje staklenim štapićem dodavati 6 mL Srebrnog nitrata, otopine.

NAPOMENA: srebro-metenamin-boratom radnu otopinu koristiti samo za jedno bojenje te nakon upotrebe baciti

#### Priprema histoloških preparata za bojanje

- 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 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 uzorka Grocott kompletom

1.	Pripremiti <b>srebro-metenamin-boratom radnu otopinu</b> , uliti je u posudu, poklopiti staklenim poklopcem i staviti u vodenu kupelj na 62°C Napomena: preporučamo korištenje posuda tipa Coplin ili Hellendahl	
2.	Deparafinacija preparata u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
3.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 3 i 2 minute
4.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
5.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
6.	Uroniti u Perjodnu kiselinu, 1%-tnu otopinu Napomena: za oksidaciju bazalne membrane produžiti inkubaciju	5 minuta za oksidaciju gljivica 11 minuta
7.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
8.	Uroniti preparate u prethodno zagrijanu srebro-metenamin-boratom radnu otopinu i inkubirati na 62°C. Mikroskopski provjeravati obojenje preparata. Ukoliko je potrebno, produžiti vrijeme inkubacije (gljivice poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini) Napomena: za bojenje bazalne membrane inkubirati 30 minuta pa vizualno provjeravati do željenog intenziteta obojenja (bazalne membrane poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini)	20 minuta za bojenje gljivica 30 minuta
9.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
10.	Uroniti u Zlatni klorid, 0.2%-tnu otopinu	30 sekundi
11.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	6 izmjena u trajanju od 5 sekundi
12.	Uroniti u Natrijev tiosulfat, 2%-tnu otopinu	2 minute

13.	Dobro isprati pod tekućom vodovodnom vodom	2 minute
14.	Uroniti u Fast Green F.C.F. kontrast reagens	2-3 minute
15.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
16.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
18.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
19.	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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

### Rezultat

Basalne membrane, glikogen, bakterije i gljivice – smeđa do crna boja  
 Pozadina – zelena boja

### Napomena

Postupci bojenja u histologiji 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 uputu proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak obrade uzorka 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

Fast Green F.C.F. kontrast reagens čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na 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. Bancroft, J.D., Gamble, M. Livingstone, C. Theory and practice of Histological Techniques – 5<sup>a</sup> edizione 2002.
2. Grocott. A Stain for fungi in tissue section and smears. Am J Pathol. 1955; 25:975.
3. Koski, J.P. (1981): Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol. 4; str. 115.
4. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U., Ermes, E. Tecniche in anatomia patologica. 1989.

FGKR-X, V1, 14.01.2019., AK/iŠP

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

 BIOGNOST d.o.o.  
 Međugorska 59  
 10040 Zagreb  
 CROATIA  
[www.biognost.com](http://www.biognost.com)

