

# FOUCHET-VAN GIESON KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od tri reagensa za prikazivanje bilirubina i kolagena

### UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: FVG-100T (za 100 testiranja) FVG-K-100 (3 x 100 mL)

#### Uvod

Fouchet-Van Gieson komplet koristi se za istovremenu vizualizaciju bilirubina i kolagena u histološkim preparatima. Bilirubin je žuto smeđi pigment koji nastaje razgradnjom hemoglobina. Razgradnja hemoglobina događa se u koštanoj srži, slezeni i jetri. U jetri pacijenata koji boluju od žutice, bilirubin se nakuplja poput tromba u žučnim kanalčićima i u obliku granula u hepatocitima i citoplazmi Kūpferovih stanica. Pigment je netopiv u vodi i vodenim fiksativima, međutim prilikom predugog izlaganja formalinskim fiksativima može promijeniti boju u zelenu. Boja koja nastaje u reakciji prilikom bojenja Fouchet-Van Gieson kompletom posljedica je jake oksidoreduktivnosti kompleksa i posljedično pretvorbe u biliverdin koji je zelene boje. Lažno pozitivna reakcija može se provjeriti s HemoGnost Perls kompletom, gdje će Perls reakcija uvijek biti negativna za bilirubin.

#### Opis proizvoda

- FOUCHET-VAN GIESON KOMPLET – Komplet za bojenje bilirubina i kolagena

Komplet sadrži:	100 testiranja (FVG-100T)	3 x 100 mL (FVG-K-100)
Trikloroctena kiselina, otopina	30 mL (TKO-OT-30)	100 mL (TKO-OT-100)
Željezni klorid, otopina	30 mL (FK-OT-30)	100 mL (FK-OT-100)
Fuchsin Acid Van Gieson reagens	30 mL (FAG-OT-30)	100 mL (FAG-OT-100)

#### Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni 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
- 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

#### 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

##### a) kompletom za 100 testiranja (FVG-100T)

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.	Nakapati na preparat 5 kapi Trikloroctene kiseline, otopine i 5 kapi Željeznog klorida, otopine	5 minuta
6.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Nakapati Fuchsin Acid Van Gieson reagens (≥5 kapi) Napomena: dužim izlaganjem, preparati poprimaju intenzivniju crvenu boju.	7 minuta
8.	Bez ispiranja, osušiti na zraku	5 minuta
9.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
10.	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.

\*Da bi se izbjeglo blijeđenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX ili BioMount DPX New sredstvom.

##### b) kompletom s pet reagensa od 100 mL (FVG-K-100)

Reagense uliti u posudice za bojenje (tip Coplin, Hellendahl ili Schifferdecker) te nakon bojenja vratiti u originalne bočice. Dobro zatvoriti. Prema potrebi reagense filtrirati.

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.	Pomiješati jednaki volumen Trikloroctene kiseline, otopine i Željezni klorid, otopinu i uroniti preparate	5 minuta
	Napomena: otopina se može koristiti još nekoliko mjeseci, međutim najbolji rezultati postižu se svježe pripremljenom otopinom	
6.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Uroniti u Fuchsin Acid Van Gieson reagens	7 minuta
8.	Bez ispiranja, osušiti na zraku	5 minuta
9.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
10.	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.

\*Da bi se izbjeglo blijeđenje preparata (gubitak žute boje) preporučamo bistrenje u ksilenu (BioClear) te montiranje pokrovnog stakla sa BioMount DPX ili BioMount DPX New sredstvom.

### Rezultat

Bilirubin – zelena boja

Kolagen – crvena boja

Mišićno tkivo, glijna vlakna, citoplazme, rožnati epitel – žuta boja

### 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.

### 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.

### Sklađištenje, stabilnost i rok valjanosti

Fouchet-Van Gieson komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. 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, 2<sup>nd</sup> 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

FVG-K-X, V4, 02.03.2021., KB/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	 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

