

# WEIGERT-VAN GIESON KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od šest reagensa za bojenje elastičnih vlakana s produženom inkubacijom UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: WVG-100T (za 100 testiranja)

WVG-K-100 (6 x 100 mL)

### Uvod

Weigert-Van Gieson komplet koristi se prvenstveno za bojenje elastina, ali i vezivnog tkiva i kolagena. Elastična vlakna sastavljena su od polimera elastina i elastičnih mikrofibrila koji zajedno tvore trodimenzionalnu mrežu u izvanstaničnom matriksu unutar vezivnog tkiva (u koži, elastičnoj hrskavici, vaskularnim zidovima, plućnom tkivu i u glasicama). Za razliku od standardnih histoloških boja, Weigert van Gieson (poznat i kao resorcin fuchsin boja) pokazuje selektivnu diferencijaciju tkivnog uzorka, čak i u ranijoj fazi bolesti. Metodom produžene inkubacije postiže se izvanredna selektivnost elastičnih vlakana.

### Opis proizvoda

- **WEIGERT-VAN GIESON KOMPLET** – Komplet za bojenje elastičnih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (WVG-100T)	6 x 100 mL (WVG-K-100)
Perjodna kiselina, 0,8%-tna otopina	30 mL (PK08-OT-30)	100 mL (PK08-OT-100)
Resorcine Fuchsin reagens	60 mL (RFR-OT-60)	100 mL (RFR-OT-100)
HCL reagens, Weigert-Van Gieson	30 mL (HCLW-OT-30)	100 mL (HCLW-OT-100)
Hematoksilin, Weigert A	30 mL (HEMA-OT-30)	100 mL (HEMA-OT-100)
Feri reagens, Weigert B	30 mL (FR-OT-30)	100 mL (FR-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 52/54, 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 DPX Low Eco, BioMount C, BioMount Aqua, Kanada Balzam
- 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 pokrovna 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

### NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Kako ne bi došlo do isparavanja reagensa s preparata, preporučamo korištenje komorice/posudice za inkubaciju.

### Priprema histoloških preparata za bojenje

- 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 52/54, BioWax Plus 56/58, 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 (WVG-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenom (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 Perjodnu kiselinu, 0.8%-tnu otopinu ( $\geq 5$ kapi)	5 minuta
6.	Bojenje Resorcin Fuchsin reagensom: uroniti preparat u Resorcin Fuchsin reagens i poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja reagensa. Ostaviti na sobnoj temperaturi preko noći ili jedan sat na $+45^{\circ}\text{C}$ u inkubacijskoj posudici. Reagens se može filtrirati i ponovno koristiti.	
7.	Nakapati HCL reagens, Weigert-Van Gieson ( $\geq 5$ kapi)	10 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Nakapati 5 kapi Hematoksilina, Weigert A i 5 kapi Feri reagensa, Weigert B. Lagano promiješati i pustiti da djeluje.	8-10 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 minuta
11.	Bojenje Fuchsin Acid Van Gieson reagensom (nakapati $\geq 5$ kapi) <small>Napomena: dužim izlaganjem, preparati poprimaju intenzivniju crvenu boju.</small>	1-3 minute
12.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	3 brzih urona
13.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	3 brzih urona
14.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
15.	Bistenje u ksilenom (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)*	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistenja, 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 sa šest reagensa od 100 mL (WVG-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.	Uroniti u Perjodnu kiselinu, 0.8%-tnu otopinu	5 minuta
6.	Bojenje Resorcin Fuchsin reagensom: uroniti preparat u Resorcin Fuchsin reagens i poklopiti kako ne bi došlo do isparavanja reagensa. Ostaviti na sobnoj temperaturi preko noći ili jedan sat na +45° C u inkubacijskoj posudici. Reagens se može filtrirati i ponovno koristiti.	
7.	Uroniti u HCL reagens, Weigert-Van Gieson	10 minuta
8.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
9.	Pripremiti radnu otopinu Weigert hematoksilina: pomiješati jednaki volumen Hematoksilina, Weigert A i Feri reagensa, Weigert B Napomena: radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata	
10.	Uroniti u radnu otopinu Weigert hematoksilina i pustiti da djeluje	8-10 minuta
11.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 minuta
12.	Uroniti u Fuchsin Acid Van Gieson reagens	1-3 minute
13.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	3 brzih urona
14.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	3 brzih urona
15.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 2 minute
16.	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.

\* 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.

#### 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.

#### Rezultat

Crno-smeđa boja – jezgre

Nijanse crveno ružičaste boje – kolagen

Tamno plava do crna boja – elastična vlakna

Žuta boja – vezivno tkivo, eritrociti i mišići

#### 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

Weigert-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

- Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
- Lillie, R.D. (1945): Studies on selective staining of collagen with acid aniline dyes, J. Technical Methods, 25:1
- 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.
- Van Gieson, I. (1889): Laboratory notes of technical methods for the nervous system, New York Med. J., 50: 57-60

WVG-X, V9, 02.03.2021., KB/IŠP

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 Kataloški broj	 Europska sukladnost	 BIOGNOST d.o.o. Međugorska 59 10040 Zagreb CROATIA www.biognost.com	
 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				