

PERLS-VAN GIESON KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet za detekciju slobodnih željezovih feri (Fe^{3+}) iona i vezivnog tkiva

UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Perls Van Gieson komplet koristi se za bojenje slobodnih željezovih iona, te vezivnog tkiva. Sastavni dio kompleta, Fuchsin Acid Van Gieson reagens sadrži dvije boje (kiseli fuksin, pikrinska kiselina) koje istovremeno selektivno boje različite tkivne strukture. Kiseli fuksin boji kolagenska vlakna intenzivnom crvenom bojom, dok pikrinska kiselina boji mišićna vlakna, citoplazmu, eritrocite i gliju vlakna žutom bojom. Amiloidi, hijalin, koloid i mukoza boje se nijansama između crvene i žute boje. Otopina kalijeva heksacijanoferata reagira u prisutnosti željeza, te tvori netopivi precipitat plave boje.

Opis proizvoda

- **PERLS VAN GIESON KOMPLET** – Komplet za bojenje kolagenskog vezivnog tkiva

Komplet sadrži:	100 testiranja (PEG-100T)	3 x 100 mL (PEG-K-100)
Kalijev heksacijanoferat, otopina	30 mL (KHC-OT-30)	100 mL (KHC-OT-100)
HCL reagens, HemoGnost Perls	30 mL (HCLH-OT-30)	100 mL (HCLH-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 uklađanje 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 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 umerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade

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.

Priprema radne otopine (za postupak bojenja označen pod slovom b)

Neposredno prije početka bojenja pomiješati Kalijev heksacijanoferat, otopinu i HCL reagens, HemoGnost Perls u omjeru 1:1

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja histoloških preparata:

a) kompletom za 100 testiranja (PEG-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 ≥ 5 kapi Kalijeva heksacijanoferata, otopinu i ≥ 5 kapi HCL reagensa, HemoGnost Perls. Lagano pomiješati.	20 minuta
6.	Pažljivo isprati u destiliranoj vodi	
7.	Bojenje Fuchsin Acid Van Gieson reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	3-5 minuta
	Napomena: Fuchsin Acid Van Gieson je kontrastna boja i dužim izlaganjem (do 5 minuta) postiže se intenzivnije pozadinsko obojenje	
8.	Brzo dehidrirati kroz 96% i 100%-tni alkohol (Histanol 96 i Histanol 100)	
	Napomena: što je preparat duže u alkoholu, više se ispire žuta boja	
9.	Bistrenje u ksilenom (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.

b) kompletom s tri reagensa od 100 mL (PEG-K-100)

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 radnu otopinu (mješavinu HCL reagensa i Kalijeva heksacijanoferata)	20 minuta
6.	Pažljivo isprati u destiliranoj vodi	
7.	Uroniti u Fuchsin Acid Van Gieson reagens	3-5 minuta
	Napomena: Fuchsin Acid Van Gieson je kontrastna boja i dužim izlaganjem (do 5 minuta) postiže se intenzivnije pozadinsko obojenje	
8.	Brzo dehidrirati kroz 96% i 100%-tni alkohol (Histanol 96 i Histanol 100)	
	Napomena: što je preparat duže u alkoholu, više se ispire žuta boja	
9.	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

Željezovi ioni – plavo

Kolagen – ljučasto crveno

Ostala tkiva i stanice – žuto

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.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Perls-Van Gieson trichrome komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +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. 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, 2nd 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

PEG-X, V1, 02.12.2021., 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

