

# GROCOTT KOMPLET, STABILIZIRANI

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Komplet od sedam reagensa za bojenje gljivica i drugih argentafilnih struktura UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: GRC-100T (za 100 testiranja) GRC-K-100 (za 300-350 testiranja)

### Uvod

Grocott komplet koristi se za vizualizaciju argentafilnih struktura u histologiji. U dijagnostičke svrhe najčešće se koristi za impregnaciju bazalnih membrana i gljivica srebrom. Princip bojenja sličan je P.A.S. bojenju, međutim ciljne strukture intenzivnije su i jačeg kontrasta nakon bojenja Grocott kompletom. Tretiranje preparata otopinom periodne kiseline 1,2-glikoli se oksidiraju do aldehida. Tijekom inkubacije u srebro-metenamin-boratom radnoj otopini, aldehidi se reduciraju do primarnih alkohola uz simultanu redukciju iona srebra do elementarnog srebra (tamnosmeđe-crne boje). Slijedi toniranje preparata otopinom zlatnog klorida koje pojačava obojenost ciljnih struktura, te uklanja nespecifično obojenje. Ispiranjem preparata otopinom natrijevog tiosulfata uklanja se višak nevezanih srebro-zlata spojeva. Na kraju se preparati izlažu Fast Green F.C.F. boji koja pozadinske strukture boji zeleno stvarajući jasan i vizualno bogat kontrast smeđe do crno obojenim ciljnim strukturama.

Ovo je nova i poboljšana formulacija Grocott kompleta koji je stabilan na sobnoj temperaturi. Ne skladištiti na nižim temperaturama.

### Opis proizvoda

- **GROCOTT KOMPLET, STABILIZIRANI** - Komplet od sedam reagensa za bojenje gljivica i drugih argentafilnih struktura

Komplet sadrži:	100 testiranja (GRC-100T)	300-350 testiranja (GRC-K-100)
Periodna kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (PK1-OT-30)	100 mL (PK1-OT-100)
Srebrni nitrat, stabilizirana otopina	3 x 100 mL (SNS-OT-100)	2 x 500 mL (SNS-OT-500)
Metenamin, otopina	50 mL (MET-OT-50)	2 x 100 mL (MET-OT-100)
Boraks, otopina	35 mL (BO-OT-35)	105 mL (BO-OT-105)
Zlatni klorid, 0.6%-tna otopina	30 mL (ZK06-OT-30)	100 mL (ZK06-OT-100)
Natrijev tiosulfat, 2%-tna otopina	30 mL (NT2-OT-30)	100 mL (NT2-OT-100)
Fast Green F.C.F. kontrast reagens	30 mL (FGKR-OT-30)	100 mL (FGKR-OT-100)

### UPOZORENJE:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu vodu visoke čistoće **bez** imalo klora (električne provodljivosti < 5,5 μS)
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dodirivati preparate ili otopine metalnim predmetima (metalne žlice, pincete i sl.) tijekom bojenja
- nanijeti reagens tako da u potpunosti prekrije preparat
- reagense čuvati na sobnoj temperaturi (od +15 °C do +25°C). Na nižoj temperaturi može doći do taloženja u reagensima i neučinkovitog bojenja

### Priprema srebro-metenamin-boratom radne otopine:

#### a) volumena 40 ml (optimalno za Coplin posudu):

U posudu dodati 15 mL dvostruko destilirane (demi) vode, 3 mL Metenamina, otopine i 2 mL Boraksa, otopine. Zatim dodati 20 mL Srebrnog nitrata, stabilizirane otopine i promiješati staklenim štapićem.

#### b) volumena 80 ml (optimalno za Hellendahl posudu):

U posudu dodati 30 mL dvostruko destilirane (demi) vode, 6 mL Metenamina, otopine i 4 mL Boraksa, otopine. Zatim dodati 40 mL Srebrnog nitrata, stabilizirane otopine i promiješati staklenim štapićem.

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

### 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).
- Prosvijetliti 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 rezati na 1-3 μm tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo, preporučljivo na adhezivno predmetno staklo (VitroGnost Plus Ultra, VitroGnost PLL, VitroGnost SIL, VitroGnost Super Frost Plus)

### Postupak bojenja uzorka

1.	Deparafinacija preparata u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 3 i 2 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Nakapati Periodnu kiselinu, 1%-tnu otopinu	5 minuta za oksidaciju gljivica
	Napomena: za oksidaciju bazalne membrane produžiti inkubaciju	11 minuta
6.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
7.	Svježe pripremiti <b>srebro-metenamin-boratom radnu otopinu</b> i inkubirati s preparatima na +56°C u vodenju kupelji. Prema potrebi mikroskopski provjeravati obojenje preparata.	20-25 minuta za bojenje gljivica

	Napomena: za bojenje bazalne membrane inkubirati 30 minuta pa vizualno provjeravati do željenog intenziteta obojenja (bazalne membrane poprimaju tamnosmeđu boju na svijetložutoj pozadini)	30-35 minuta
8.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
9.	Nakapati Zlatni klorid, 0.6%-tnu otopinu	30-60 sekundi
	Napomena: dulje izlaganje otopini Zlatnog klorida, 0.6% pomiče nijansu obojenja membrana od crne prema sivoj boji	
10.	Isprati u dvostruko destiliranoj (demi) vodi sobne temperature	3 izmjene u trajanju od 30 sekundi
11.	Nakapati Natrijev tiosulfat, 2%-tnu otopinu	2 minute
12.	Isprati pod indirektnim mlazom tekuće vodovodne vode	2 minute
13.	Nakapati Fast Green F.C.F. kontrast reagens	2-3 minute
14.	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
15.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
16.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	30 sekundi
17.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
18.	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.

### Rezultat

Bazalne 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 bojenje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojenje 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

Grocot komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25°C. Držati na suhom, 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° edizione 2002.
2. Grocott. A Stain for fungi in tissue section and smears. Am J Pathol. 1955; 25:975.
3. Jones, D.B. (1957): Nephrotic Glomerulonephritis, Am J Pathol. Apr; 33(2): 313–329
4. Koski, J.P. (1981): Silver methenamine-borate (SMB): Cost reduction with technical improvement in silver nitrate-gold chloride impregnations. J. Histotechnol. 4; str. 115.
5. Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U., Ermes, E. Tecniche in anatomia patologica. 1989.

GRC-X, V21, 25.05.2022. 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		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

