

ELASTICA-VAN GIESON KIT

BIOGNOST®

IVD

In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz

CE

Négy reagensből álló készlet kollagénrostok gyors festésére

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

REF

Katalógus szám:

WVGB-100T (100 tesztre)

WVGB-K-100 (4 x 100 ml)

Bevezetés

Az Elastica-Van Gieson kit elasztin, kötőszövet és kollagén jelölésére alkalmas. Az elasztikus rostok elasztin polimerekből és elasztikus mikrofibrillumokból állnak, melyekből a kötőszöveti extracelluláris mátrix 3D hálózata épül fel (bőr, rugalmas porc, érfalak, tüdő, hangszalagok). A standard szövettani festékekkel ellentétben a Weigert Van Gieson reagens (amely resorcin-fuchsin reagensként is ismert) szelektíven differenciálja a szövetmintákat még a betegség korai szakaszában is. Az Elastica-Van Gieson kité alkalmazva a metszeteket először Resorcine Fuchsin reagenssel kezeljük. A pozitív töltésű hidrofób resorcin-fuchsin festék nagy mennyiségben van jelen a reagensben és elektropolaritása következtében savas, negatív töltésű rugalmas rostok héjaira rakódik le. Hígított alkohollal történő differenciálás vagy csapvízes öblítés után a sejtmagokat acid-fast Weigert hematoxylinnal festjük. A festés utolsó fázisa a Fuchsin Acid Van Gieson reagenssel történő festés, mely két komponensből áll (savas fuchsin, pikrinsav), melyek szimultán jelölik a különböző struktúrákat. A savas fuchsin a kollagénrostokat intenzív vörösre festi, míg a pikrinsav az izomrostokat, erythrocytákat és glia rostokat sárgára. A metszeteket optimálisan rövid ideig szükséges festeni a gyors festési eljárás alkalmazásával.

Termék leírása

- ELASTICA-VAN GIESON KIT – Készlet elasztikus rostok gyors festésére.

A készlet tartalma:	100 tesztre (WVGB-100T)	4 x 100 ml (WVGB-K-100)
Resorcine Fuchsin reagent	60 ml (RFR-OT-60)	100 ml (RFR-OT-100)
Hematoxylin, Weigert A	30 ml (HEMA-OT-30)	100 ml (HEMA-OT-100)
Ferri reagent, Weigert B	30 ml (FR-OT-30)	100 ml (FR-OT-100)
Fuchsin Acid Van Gieson reagent	30 ml (FAG-OT-30)	100 ml (FAG-OT-100)

A festés során használatos egyéb eszközök, reagensk:

- Fixálószerek, mint a BioGnost neutrális pufferezett formalin oldatai: Formaldehyde NB 4%, Formaldehyde NB 10%
- Dehidrááló/rehidrááló szerek, mint a BioGnost alkohol oldatok: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100
- Derítő oldatok, mint a BioClear xilol vagy helyettesítői, mint a BioClear New, mely alifás szénhidrogén alapú
- Beágyazó médium, mint a BioGnost granulált paraffinja, a BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro.
- Fedő anyag, mint a BioGnost BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- Magas minőségű tárgylemezek, mint a VitroGnost SUPER GRADE vagy a BioGnost több, mint 30 tárgylemez típusa közül bármelyik.
- VitroGnost fedőlemezek 18 x 18 mm-es mérettől 24 x 60 mm-es méretig
- BioGnost immerziós olajok, például az Immersion oil vagy Immersion oil 37, A, C, FF típus, vagy Tropica Grade.

MEGJEGYZÉS

Mindig vigyen fel annyi reagenst a tárgylemezre, hogy teljesen fedje el a metszetet.

A reagens párolgást megelőzendő javasoljuk az inkubációs kamra/tálca használatát.

Szövettani metszetek előkészítése a festésre

- Fixáljuk a szövetmintákat (4% NB Formaldehyde, 10% NB Formaldehyde), öblítsük vízben és dehidráljuk felszálló alkoholsorozatban (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100).
- Derítsünk közbűlő médiumban, xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítő oldatban (BioClear New).
- Itassuk át és öntsük ki a szövetmintát paraffinba (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Metsszük a paraffin blokkot 4-6 µm vastagságú metszetekre, majd húzzuk fel a metszeteket VitroGnost tárgylemezre.

a) a 100 tesztre alkalmas készlettel (WVGB-100T)

1.	Deparaffinálja a metszetet xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	3 váltás, mindegyikben 2 perc
2.	Rehidráljon 100%-os alkoholban (Histanol 100)	2 váltás, 5, illetve 3 perc
3.	Rehidráljon 95%-os alkoholban (Histanol 95)	2 perc
4.	Rehidráljon desztillált (vagy ioncserélt) vízben	2 perc
5.	Resorcine Fuchsin reagenssel való festés: mártsa a metszetet Resorcine Fuchsin reagensbe és fedje azt le a párolgás kiküszöbölése érdekében. A reagens szűrhető és újra felhasználható.	30 perc
6.	Mossa a metszetet csapvízben	1 perc
7.	Cseppentsen a metszetekre 5 csepp Hematoxylin Weigert A és 5 csepp Ferri reagent Weigert B oldatot, óvatosan keverje meg és hagyja reakcióba lépni.	5 perc
8.	Mossa a metszeteket csapvízben	1 perc
9.	Cseppentsen a metszetekre Fuchsin Acid Van Gieson reagenst (≥5 csepp)	5 – 10 perc
10.	Mossa a metszeteket gyorsan desztillált/ioncserélt vízben	
11.	Gyorsan dehidráljon 96%-os, majd 100%-os alkoholban (Histanol 96 és Histanol 100)	
	Megjegyzés: a sárga festék kimosódása annál intenzívebb, minél több ideig merítjük alá a metszeteket	
12.	Derítse a metszeteket xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	2 váltás, mindegyikben 2 perc

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedőanyaggal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjünk a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

b) a 4 x 100 ml-es készlettel (WVGB-K-100)

Öntse a reagenseket üveg festőküvetába (Coplin, Hellendahl, Schifferdecker), majd a festés végeztével öntse vissza az eredeti edénybe, zárja le gondosan. Szükség esetén szűrje le a reagenseket.

1.	Deparaffinálja a metszetet xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	3 váltás, mindegyikben 2 perc
2.	Rehidráljon 100%-os alkoholban (Histanol 100)	2 váltás, 5, illetve 3 perc
3.	Rehidráljon 95%-os alkoholban (Histanol 95)	2 perc
4.	Rehidráljon desztillált (vagy ioncserélt) vízben	2 perc
5.	Resorcine Fuchsin reagensel való festés: mártsa a metszetet Resorcine Fuchsin reagensbe és fedje azt le a párolgás kiküszöbölése érdekében. A reagens szűrhető és újra felhasználható.	30 perc
6.	Mossa a metszetet csapvízben	1 perc
7.	Készítse el a Weigert hematoxylin munkaoldatot: keverjen össze Hematoxylin, Weigert A és Ferri reagent, Weigert B oldatokat 1:1 arányban. Megjegyzés: a munkaoldat körülbelül 2 hétig stabil. A minták számának megfelelő mennyiséget készítsen.	
8.	Merítse a metszeteket Weigert hematoxylin munkaoldatba és hagyja reakcióba lépni.	5 perc
9.	Mossa a metszeteket csapvízben	1 perc
10.	Mártsa a metszeteket Fuchsin Acid Van Gieson reagensbe	5 – 10 perc
11.	Mossa a metszeteket gyorsan desztillált/ioncserélt vízben	
12.	Gyorsan dehidráljon 96%-os, majd 100%-os alkoholban (Histanol 96 és Histanol 100)	
	Megjegyzés: a sárga festék kimosódása annál intenzívebb, minél több ideig merítjük alá a metszeteket	
13.	Derítse a metszeteket xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	2 váltás, mindegyikben 2 perc

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedőanyaggal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

Megjegyzés

A festési időtartamok nem teljesen standardizáltak a klinikai és laboratóriumi gyakorlatban. Az ebben a használati útmutatóban javasolt festési időtartamok megfelelnek a hosszútávú használat során tapasztalt optimális festődéseknek. A festés intenzitása a festékeknek és reagenseknek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás egyéb protokollok alapján is elvégezhető egyéni preferenciának és prioritásoknak megfelelően.

A festés eredménye

Fekete - kék - sejtmagok

Vörös-pink árnyalatai - kollagén

Sötétlila - fekete – elasztikus rostok

Sárga – kötőszövet, erythrocyták, izomrostok

A minta előkészítése és diagnosztika

A minta levételéhez és előkészítéséhez csak erre alkalmas eszközt használjon. A minták feldolgozása korszerű körülmények között és világos megjelöléssel végezhető. Mindig kövesse a gyártó használati útmutatóját! A hibák elkerülése érdekében a festési eljárást és annak kiértékelését arra jogosult és képzett szakszemélyzet végezze el. Kiértékeléshez az orvosi diagnosztikai laboratóriumok követelményrendszerének megfelelő mikroszkópot használjon. A hibás eredmény elkerülése érdekében mindig végezzen pozitív és negatív kontroll vizsgálatot!

Munka- és környezetvédelem

A terméket a munkavédelmi és környezetvédelmi irányelveknek megfelelően használja. A használt vagy lejárt szavatossági idejű oldatokat a nemzeti ajánlásoknak megfelelően veszélyes anyagként kell kezelni és megsemmisíteni. Az ehhez a festési eljáráshoz alkalmazott reagensek veszélyesek lehetnek az emberi egészségre. A folyamat során vizsgált minták fertőzésveszélyt jelenthetnek. Az emberi egészség megóvása érdekében a jó laboratóriumi gyakorlatnak megfelelő ajánlott védő intézkedések betartása javasolt. A termékek a rajtuk található figyelmeztető jelzéseknek, valamint a BioGnost termékbiztonsági adatlapjaiban leírtaknak megfelelően kezelendők.

Tárolás, stabilitás és lejárati idő

Az Elastica-Van Gieson kit szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagenst tartsuk száraz helyen, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárati dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

- Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2nd 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, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, p 14-167.
- Van Gieson, I. (1889): Laboratory notes of technical methods for the nervous system, New York Med. J., 50: 57-60

WVGB-X, V1-EN2, 02 July 2019, AK/IŠP

	Lásd a mellékelt dokumentumon		Tárolási hőmérséklet		Tesztek száma csomagolásonként	REF	Termékkód		Európai minősítés
	Lásd a mellékelt útmutatót		Hőtől és fénytől védve tárolandó		Minőségét megőrzi	LOT	Lot szám		Gyártó
IVD	In vitro diagnosztikai alkalmazásra		Száraz helyen tárolandó		Vigyázat, törékeny				

 BIOGNOST Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

