

MARTIUS SCARLET BLUE (MSB) KIT

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od 7 reagensa za bojenje fibrina i kolagena UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MSB-100T (za 100 testiranja) MSB-K-100 (6 x 100 mL + 1 x 250 mL)

Uvod

Histologija, citologija i druge srodne znanstvene discipline proučavaju mikroskopsku anatomiju tkiva i stanica. Kako bi se postigla dobra vizualizacija tkivnih i staničnih struktura, potrebno ih je pravilno obojiti. Martius Scarlet Blue tehnika bojenja služi za vizualizaciju fibrina, posebno starijih nakupina. Ova metoda predstavlja modifikaciju Masson trichrome metode i idealna je za proučavanje vezivnog tkiva i vaskularne patologije.

Opis proizvoda

- MARTIUS SCARLET BLUE (MSB) KIT** – Komplet od sedam reagensa za bojenje fibrina i kolagena

Komplet sadrži:	100 testiranja (MSB-100T)	6x100 mL + 1x250 mL (MSB-K-100)
Martius Yellow, otopina	30 mL (MAY-OT-30)	100 mL (MAY-OT-100)
Ponceau S, otopina	30 mL (PONS-OT-30)	100 mL (PONS-OT-100)
Aniline blue, otopina	30 mL (ABO-OT-30)	100 mL (ABO-OT-100)
Fosfovolframova kiselina 1%-tna otopina	30 mL (FVK1-OT-30)	100 mL (FVK1-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)
Kiseli alkohol	100 mL (KA-OT-30)	250 mL (KA-OT-250)

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 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.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (MSB-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 Hematoksilina, Weigert A i 5 kapi Feri reagensa, Weigert B. Lagano promiješati i pustiti da djeluje	10 minuta
	Napomena: Radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Nakon što jezgre počnu poprimiti smeđu boju, radnu otopinu baciti	
6.	Kratko isprati u tekućoj vodovodnoj vodi	
7.	Uroniti u Kiseli alkohol, MSB	2 urona
8.	Isprati u tekućoj vodovodnoj vodi	5 minuta
9.	Isprati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
10.	Nakapati Martius Yellow otopinu (≥ 5 kapi)	5 minuta
11.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
12.	Nakapati Ponceau S otopinu (≥ 5 kapi)	10 minuta
13.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
14.	Nakapati Fosfovolframovu kiselinu, 1%-tnu otopinu (≥ 5 kapi)	4 minute
15.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
16.	Nakapati Aniline Blue, otopinu (≥ 5 kapi)	5 minuta
17.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
20.	Bistrenje u ksilenom (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.

b) kompletom s reagensima od 100 mL (MSB-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.	Pripremiti radnu otopinu Weigert hematoksilina: pomiješati jednaki volumen Hematoksilina, Weigert A i Feri reagensa, Weigert B	10 minuta
	Napomena: Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata. Radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Nakon što jezgre počnu poprimiti smeđu boju, otopinu baciti	
6.	Kratko isprati u tekućoj vodovodnoj vodi	
7.	Uroniti u Kiseli alkohol, MSB	2 urona
8.	Isprati u tekućoj vodovodnoj vodi	5 minuta
9.	Isprati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
10.	Uroniti u Martius Yellow otopinu	5 minuta
11.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
12.	Uroniti u Ponceau S otopinu	10 minuta
13.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
14.	Uroniti u Fosfovolframovu kiselinu, 1%-tnu otopinu	4 minute
15.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
16.	Uroniti u Aniline Blue, otopinu	5 minuta
17.	Isprati u demineraliziranoj vodi	2 minute
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
21.	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 supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Jezgre – plava/crna boja

Mišići – zagasito crvena boja

Fibrin – crvena boja (mlade nakupine mogu se obojiti žuto, a starije plavo)

Kolagen – plava boja

Eritrociti – žuta boja

Napomena

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzoraka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorija, obrada uzorka i bojanje može se izvoditi i prema drugim protokolima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se prije primjene provesti pozitivnu i negativnu kontrolu.

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 dostupnim na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Martius Scarlet Blue (MSB) kit 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

- John, D. B. (2009): Theory and Practice of Histological Techniques, 6th ed.,
- Stefan, J. A. (1984): Simultaneous demonstration of connective tissue elastica and fibrin by a combined Verhoeff 's elastic - Martius - Scarlet - Blue trichrome stain, Stain Technology, 59(1): 1–5
- Mariusz, G. et al. (2017): Combined orcein and martius scarlet blue (OMSB) staining for qualitative and quantitative analyses of atherosclerotic plaques in brachiocephalic arteries in apoE/LDLR^{-/-} mice, Cross Mark, 147(6): 671–681
- Lendrum, A. C. (1962): Studies on the character and staining of fibrin, J Clin Pathol., 15(5): 401–413

MSB-X, V2, 24.06.2021., 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

