

METHYL BLUE EOSIN, OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Modificirana Mann otopina za primjenu u histologiji UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MBE-OT-100 (100 mL) MBE-OT-500 (500 mL) MBE-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Polikromatska otopina Methyl Blue i Eosin Y boje (modificirana Mann otopina) uglavnom se koristi za bojenje prednje hipofize i virusnih inkluzija. Sastoji se od dvije boje koje granule alfa stanica boje crveno, granule beta stanica tamno plavo, hipofizne stanice bez granula sivo do ružičasto, koloide crveno, eritrocite narančasto-crveno te kolagena vlakna plavo. Također se koristi i za bojenje vrčastih stanica, enterocita, Panethovih stanica i stanica gušterače, a često se koristi i za dokazivanje Negrijevih tjelešaca koja se oboje crveno, dok se njihove jezgre i centralne granule boje plavo. Gustav Mann je 1894. godine opisao dva načina izvođenja bojenja s Methyl Blue Eosin otopinom. Brzim načinom izvođenja dobiva se uvid u stanje histološkog preparata dok se sporim načinom izvođenja omogućuje vizualizacija citoplazmatskih detalja poput sekrecijskih granula i viralnih inkluzija. Za razliku od brze metode bojenja koje traje 10 minuta, spora metoda traje 12-24 sata.

Opis proizvoda

- **METHYL BLUE EOSIN, OTOPINA** – Polikromatska otopina za bojenje u histologiji

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

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 – „brza“ metoda*

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.	Bojenje Methyl Blue Eosin, otopinom	10 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	nekoliko sekundi
Napomena: ovim korakom uklanja se višak boje s preparata		
7.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 30 sekundi
8.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
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.

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

Jezgre, kolagen, mukoza – plava boja
Eritrociti, citoplazma, jezgrice – crvena boja

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

Methyl Blue Eosin, otopinu 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

1. Cook, H.C.(1974): Manual of histological demonstration techniques, 4th ed. ed. Butterworth, London
2. Glenner, G.G. et. Lillie, R.D. (1957): A rhodocyan technic for staining the anterior pituitary, *Stain Technol.* 32(4): 187-190
3. Kiernan, J.A. (2008): Histological and Histochemical methods: Theory and practice, 4th ed. Bloxham, UK: Scion

MBE-OT-X, V3, 15.02.2017., AK/VR

	Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 °C	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

