

MASSON FONTANA KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od šest reagensa za bojenje melanina i argentafinskih granula UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MF-100T (za 100 testiranja) MF-K-100 (9x100 mL) MF-K-500 (9x500 mL)

Uvod

Masson Fontana komplet koristi se u specifičnoj metodi za dokazivanje melanina i argentafinskih granula u histološkim presjecima, koja se temelji na redukciji srebrovog nitrata do elementarnog srebra. Melanin je pigment koji se normalno nalazi u koži, kosi, mrežnici i nekim dijelovima središnjeg živčanog sustava. Kako bi izbjegli mogućnost dobivanja lažno pozitivnog rezultata, BioGnostov Masson Fontana komplet sadrži reagense za depigmentaciju melanina. Depigmentacija se provodi na kontrolnom preparatu prije impregnacije srebrom.

Opis proizvoda

MASON FONTANA KOMPLET - Komplet od 6 reagensa za bojenje melanina i argentafinskih granula.

Komplet sadrži:	100 testiranja (MF-100T)	9 x100 mL (MF-K-100)	9 x500 mL (MF-K-500)	Temperatura skladištenja:
Kalijev permanganat, 0.5%-tna otopina	30 mL (KP05-OT-30)	100 mL (KP05-OT-100)	500 mL (KP05-OT-500)	15-25°C
Sumporna kiselina, 0.5%-tna otopina	30 mL (SK05-OT-30)	100 mL (SK05-OT-100)	500 mL (SK05-OT-500)	15-25°C
Oksalna kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (OKS1-OT-30)	100 mL (OKS1-OT-100)	500 mL (OKS1-OT-500)	15-25°C
Srebro amonijev reagens	2x30 mL (SAR-OT-30)	2x100 mL (SAR-OT-100)	2x500 mL (SAR-OT-500)	2-8°C
Natrijev tiosulfat, 5%-tna otopina	2x30 mL (NT5-OT-30)	2x100 mL (NT5-OT-100)	2x500 mL (NT5-OT-500)	15-25°C
Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagens	2x30 mL (KR-OT-30)	2x100 mL (KR-OT-100)	2x500 mL (KR-OT-500)	15-25°C

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja:

- 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 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

UPOZORENJE:

Kako bi postigli što bolje rezultate slijedite ova pravila:

- koristiti destiliranu ili demineraliziranu (dvostruko destiliranu) vodu visoke čistoće BEZ imalo klora
- koristiti potpuno čisto laboratorijsko posuđe
- ne dovoditi metalne objekte u kontakt s otopinama (škarice, pincete i sl.)
- ne koristiti preparate fiksirane u fiksativima koji sadrže soli teških metala poput živinog klorida i kalijevog bikromata jer mogu izazvati lažno pozitivnu reakciju
- u postupku bojenja koriste se alkalne otopine koje mogu uzrokovati otpadanje preparata s predmetnog stakla. **Preporučamo korištenje pozitivno nabijenih predmetnih stakala**

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 Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na **adhezivno** VitroGnost predmetno staklo.

Postupak bojenja uzorka

Napomena: Za optimalne rezultate tkivni preparati trebaju biti montirani na VitroGnost adhezivno predmetno staklo (u koraku broj 5 odabrati opciju a). Ukoliko to nije moguće, u koraku broj 5 odabrati **opciju b**.

Napomena: Pripremiti dva uzorka istog tkiva od kojih će jedan biti negativan kontrolni preparat, a drugi preparat za postavljanje dijagnoze.

Na negativnom kontrolnom preparatu provodi se depigmentacija melanina pomoću kalijevog permanganata i sumporne kiseline.

Na preparatu za postavljanje dijagnoze ne radi se depigmentacija melanina, već je postupak bojenja drukčiji i kreće od koraka broj 9. U tom slučaju, ako se u uzorku nalazi melanin, on će biti vidljiv (za razliku od negativnog kontrolnog uzorka gdje melanina nema).

PRIPREMA KONTROLNOG PREPARATA – izbjeljivanje tkiva		
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.	a) Izbjeljivanje tkiva na adhezivnom predmetnom staklu: 5 kapi Kalijevog permanganata, 0,5%-tnom otopinom + 5 kapi Sumporne kiseline, 0,5%-tne otopine	5 minuta
	b) Izbjeljivanje tkiva na običnom predmetnom staklu: 5 kapi Kalijevog permanganata, 0,5%-tnom otopinom	30 minuta
6.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
7.	Tretiranje Oksalnom kiselinom, 1%-tnom otopinom	5 minuta
8.	Lagano isprati u destiliranoj (demi) vodi	
Nastaviti postupak kod 13. Koraka (preskočiti korake 9, 10, 11, 12)		
PRIPREMA PREPARATA ZA DIJAGNOZU		
9.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 10 minuta
10.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
11.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
12.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
13.	Staviti preparate u posudu za inkubaciju (Petrijeva posuda ili transportna kutijica)	
14.	Tretirati preparate Srebro amonijevim reagensom. Otopinu nakon korištenja baciti.	preko noći na sobnoj temperaturi ili 30-40 minuta na 56°C
	Napomena: Srebro amonijev reagens ostaviti na sobnoj temperaturi 10 minuta prije upotrebe	
15.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	nekoliko ispiranja
16.	Tretirati preparate Natrij tiosulfat, 5%-tnom otopinom	1-2 minute
17.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	nekoliko ispiranja
18.	Bojenje preparata Nuclear Fast Red (Kernechtrot) reagensom	5 minuta
19.	Ispiranje u destiliranoj (demi) vodi	
19.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
20.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
21.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
22.	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

Melanin, argentafinske granule - crna boja kod preparata za dijagnozu, a kod kontrolnog preparata crna boja nedostaje jer je provedena depigmentacija melanina

Jezgre – crvena boja

Napomena

Postupci bojanja u mikrobiologiji 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 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

Reagensi Masson Fontana kompleta imaju različite temperaturne režime čuvanja, označenim na njihovim etiketama. Reagense čuvati na propisanim temperaturama, držati na suhom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U., Ermes, E. Tecniche in anatomia patologica. 1989.
- Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J., Sobin, L. Laboratory methods in histotechnology. American Registry of Pathology.
- Bancroft, J.D., Gamble, M. Livingstone, C. Theory and practice of Histological Techniques – 5^a edizione 2002.

MF-X, V11, 26.11.2019., IŠP/VR

 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

