

MASSON TRICROME KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Komplet od sedam reagensa za bojenje mišićnih i kolagenskih vlakana

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MST-100T (za 100 testiranja)

MST-K-100 (7x100 mL)

MST-K-500 (7x500 mL)

Uvod

Masson trichrome komplet koristi se za vizualizaciju mišića, kolagenskih vlakana i vezivnog tkiva, gameta, jezgara, neurofibrila, neurogljija, kolagena, keratina, intracelularnih fibrila te negativne slike Golgijskog aparata. Metoda bojenja mišićnih i kolagenskih vlakana u tkivima pri čemu se boja Aniline Blue veže za kolagen dajući mu karakteristično plavo obojenje. Koristi se za vizualizaciju povećanog nakupljanja kolagena koje se veže uz zamjenu funkcionalnog tkiva s ozbiljkastim (dijagnosticiranje skleroze jetre), ali i za razlikovanje glatkih mišićnih vlakana i kolagena.

Opis proizvoda

- MASSON TRICROME KOMPLET- Komplet od sedam reagensa za bojenje mišićnih i kolagenskih vlakana.

Komplet sadrži:	100 testiranja (MST-100T)	7 x 100 mL (MST-K-100)	7 x 500 mL (MST-K-500)
Bouinova otopina	100 mL (BOU-OT-100)	100 mL (BOU-OT-100)	500 mL (BOU-OT-500)
Hematoksilin, Weigert A	30 mL (HEMA-OT-30)	100 mL (HEMA-OT-100)	500 mL (HEMA-OT-500)
Feri reagens, Weigert B	30 mL (FR-OT-30)	100 mL (FR-OT-100)	500 mL (FR-OT-500)
Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagens	30 mL (BSAF-OT-30)	100 mL (BSAF-OT-100)	500 mL (BSAF-OT-500)
P.T.A.-P.M.A. reagens	30 mL (PPR-OT-30)	100 mL (PPR-OT-100)	500 mL (PPR-OT-500)
Aniline Blue reagens	30 mL (ABR-OT-30)	100 mL (ABR-OT-100)	500 mL (ABR-OT-500)
Octena kiselina, 1%-tna otopina	30 mL (OK1-OT-30)	100 mL (OK1-OT-100)	500 mL (OK1-OT-500)

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 prosvjjetljavanje 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 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 bojanje

- Uzorak 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 uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i ukloniti uzorak u parafin (BioWax Plus, 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 (MST-100T)

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minute
2.	Rehidracije 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.	Uroniti u Bouinovu otopinu	60 minuta na 56 °C ili preko noći na sobnoj temperaturi
6.	Ohladiti preparat na sobnu temperaturu	10 minuta
7.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 sekundi
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	10 sekundi
9.	Nakapati 5 kapi Hematoksilina, Weigert A i 5 kapi Feri reagensa, Weigert B. Lagano promješati i pustiti da djeluje.	15-20 minuta
10.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
11.	Bojenje Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	20 minuta
12.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
13.	Nakapati PTA-PMA reagens (≥ 5 kapi)	10 minuta
14.	Izljevanje reagensa s preparata bez ispiranja	
15.	Bojenje Aniline Blue reagensom (nakapati ≥ 5 kapi)	5-7 minuta
16.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
17.	Nakapati 1%-tnu otopinu octene kiseline (≥ 5 kapi)	1-2 sekunde
18.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
19.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
20.	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 stakлом.

b) kompletom sa sedam reagensa od 100 mL ili 500 mL (MST-K-100, MST-K-500)

Reagensne 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%-nom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-nom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Uroniti u Bouinovu otopinu	60 minuta na 56 °C ili preko noći na sobnoj temperaturi
6.	Ohladiti preparat na sobnu temperaturu	10 minuta
7.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	10 sekundi
8.	Ispiranje u destiliranoj vodi	10 sekundi
9.	Pripremiti radnu otopinu Weigert hematoksilina: pomiješati jednak volumen Hematoksilina, Weigert A i Feri reagensa, Weigert B	
	Napomena: radna otopina stabilna je otprilike dva tjedna. Pripremiti volumen radne otopine koji je dovoljan za bojenje testnih preparata	
10.	Uroniti u radnu otopinu Weigert hematoksilina i pustiti da djeluje	15-20 minuta
11.	Ispiranje pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
12.	Uroniti u Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin reagens	20 minuta
13.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
14.	Uroniti u PTA-PMA reagens	10 minuta
15.	Izljevanje reagensa s preparata bez ispiranja	
16.	Uroniti u Aniline Blue reagens	5-7 minuta
17.	Ispiranje u destiliranoj vodi	dok se ne ispere višak boje s preparata
18.	Uroniti u 1%-nu otopinu octene kiseline	1-2 urona
19.	Dehidracija u 95%-nom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
20.	Dehidracija u 100%-nom alkoholu (Histanol 100)	2 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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim stakлом.

Rezultat

Jezgre – plavo-ljubičasta boja

Mišićna vlakna, keratin, citoplazme – žarko crvena boja

Kolagen, mukoza – plava boja

Eritrociti – žuta do narančasto-crvena boja

Napomena

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

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzorka 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 laboratorijskog postupka.

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. Ispitivanje uzorceva tkiva potencijalno su infektivna 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

Masson trichrome 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

- Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
- Lillie, R.D. (1945): Studies on selective staining of collagen with acid aniline dyes, J. Technical Methods, 25:1
- Melis, M., Carpino, F., Di Tondo, U. (1989), Tecniche in anatomia patologica, Edi Ermes, Milano.
- Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

MST-X, V17, 27.04.2023., LO/ ŠP

	Obavezno proučiti priloženo 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 in vitro dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom						

BIOGNOST d.o.o.
Meduševska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

