

MARTIUS YELLOW, OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Za primjenu u Martius Scarlet Blue (MSB) kompletu

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MAY-OT-30 (30 mL)

MAY-OT-100 (100 mL)

Uvod

Martius Yellow, otopina sastavni je dio Martius Scarlet kompleta, a koristi se za vizualizaciju eritrocita te mladih nakupina fibrina. 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 YELLOW, OTOPINA** – Otopina Martius Yellow boje u prahu optimalne koncentracije

Primjer primjene Martius Yellow, otopine kao komponente Martius Scarlet Blue kompleta

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- 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 njegova supstituta na bazi alifatskih ugljikovodika poput BioClear New sredstva
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue
- 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
- Predmetna stakla za primjenu u histologiji, patologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih predmetnih stakala
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostovi reagensi koji čine Martius Scarlet Blue komplet: Ponceau S, otopina (PONS-OT-30, PONS-OT-100), Aniline blue, otopina (ABO-OT-30, ABO-OT-100), Fosfovolframova kiselina, 1%-tna otopina (FVK1-OT-30, FVK1-OT-100), Hmeatoksilin, Weigert A (HEMA-OT-30, HEMA-OT-100), Feri reagens, Weiger B (FR-OT-30, FR-OT-100), Kiseli alkohol (KA-OT-100, 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).
- 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.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Postupak bojenja uzorka

a) kompletom za 100 testiranja (MSB-100T)

| | | |
|-----|---|--------------------------------------|
| 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. | 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 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 supstitit 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 Fosfolvramovu 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 supstitit 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) 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

- 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

MAY-X, V1, 30.08.2022., 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

