

# METANIL ŽUTO, OTOPINA

**IVD** In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Za primjenu u Mucicarmine kompletu

### UPUTA ZA RUKOVANJE

**REF** Kataloški broj: MY-OT-100 (100 mL)

#### Uvod

Metanil žuto, otopina sastavni je dio Mucicarmine kompleta koji se koristi za vizualizaciju kiselih mukopolisaharida (mucina). Primjena ovog kompleta može biti iznimno korisno kod utvrđivanja vrste tumora obzirom na tumorsku proizvodnju mucina. Također koristi se i u mikrobiologiji za identifikaciju mikroorganizama na temelju obojenja stanične membrane, no to je ograničeno na one vrste mikroorganizama koje imaju staničnu membranu u cijelosti, ili barem dijelom, od polisaharida.

#### Opis proizvoda

METANIL ŽUTO, OTOPINA – Otopina Metanil žuto boje u prahu u zakiseljenoj vodenoj otopini.

#### Primjer primjene Metanil žuto, otopine kao dio Mucicarmine kompleta:

Komplet sadrži:	100 testiranja (MUC-100T)	4 x 100 mL (MUC-K-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)
Mayerov mucikarmin	30 mL (MMU-OT-30)	100 mL (MMU-OT-100)
Metanil žuto, otopina	30 mL (MY-OT-30)	100 mL (MY-OT-100)

#### 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
- Ostale komponente Mucicarmine kompleta: Hematoksilin, Weigert A, Feri reagens, Weigert B, Mayerov mucikarmin

#### Priprema histoloških preparata za bojenje

- Tkvni 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 u uklopliti 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 (MUC-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.	Bojenje Hematoksilinom, Weigert A (nakapati 5 kapi) i Feri reagensom, Weigert B (nakapati 5 kapi). Lagano promiješati na preparatu	2-5 minuta
6.	Ispiranje pod tekućom, vodovodnom vodom	10 minuta
7.	Priprema radne otopine mucikarmina: pomiješati 5 kapi Mayerovog mucikarmina s 0,5 mL destilirane (demi) vode (razrjeđenje 1+9). Uroniti i inkubirati preparate u pripremljenu radnu otopinu	60 minuta
	Napomena: u slučaju bojenja većeg broja preparata, pripremiti radnu otopinu u volumenu od 40 mL miješajući 4 mL Mayerovog mucikarmina i 36 mL destilirane (demi) vode (razrjeđenje 1+9). Uroniti i inkubirati preparate u pripremljenu radnu otopinu	60 minuta
	Napomena: radnu otopinu mucikarmina nakon upotrebe baciti	
8.	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	
10.	Nakapati Metanil žuto, otopinom ( $\geq 5$ kapi)	1 minuta
11.	Ispirati u destiliranoj (demi) vodi	
12.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona

<b>13.</b>	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
<b>14.</b>	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
<b>15.</b>	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrena, 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 s četiri reagensa od 100 mL (MUC-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.

<b>1.</b>	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
<b>2.</b>	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
<b>3.</b>	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
<b>4.</b>	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
<b>5.</b>	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	
<b>6.</b>	Uroniti u radnu otopinu Weigert hematoksilina	2-5 minuta
<b>7.</b>	Ispiranje pod tekućom, vodovodnom vodom	10 minuta
<b>8.</b>	Priprema radne otopine mucikarmina: pomiješati Mayerov mucicarmin s destiliranim (demi) vodom u omjeru 1+9, npr. 6 mL Mayerovog mucicarmina i 54 mL destilirane (demi) vode. Uroniti i inkubirati preparate u pripremljenoj radnoj otopini	60 minuta
	Napomena: radnu otopinu mucicarmina nakon upotrebe baciti	
<b>9.</b>	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
<b>10.</b>	Uroniti u Metanil žuto, otopinu	1 minuta
<b>11.</b>	Isprati u destiliranoj (demi) vodi	
<b>12.</b>	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	5 urona
<b>13.</b>	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	5 urona
<b>14.</b>	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 minute
<b>15.</b>	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minute

Odmah nakon bistrena, 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 - crna boja

Kiseli mukopolisaharidi (mucini) - različite nijanse crvene boje

Ostale strukture, neutralni mucini - svijetlo žuta boja

#### Napomena

Postupci bojenja nisu standardizirani i ovise o standardnim operativnim postupcima pojedinih laboratorija i iskustvu djelatnika koji izvode bojanje uzorka. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Ovisno o osobnim zahtjevima i standardnim operativnim postupcima laboratorijske obrade 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 rada.

#### 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

Metanil žuto, otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. 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. (1989), Tecniche in anatomia patologica, Edi Ermes, Milano.
- Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J., Sabin, L. (1968), Laboratory methods in histotechnology, McGraw Hill, Washington D.C.
- Bancroft, J.D., Gamble, M. (2002), Theory and practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone, New York.

MY-X, V1, 01.02.2019., IŠP/AK

	Temperaturni raspon čuvanja		Kataloški broj		Biognost d.o.o. Medugorska 59 10040 Zagreb CROATIA www.biognost.com
	Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Broj serije		
	Čuvati na suhom				

