1.00485.0001

# Mikroskopie

# Masson-Goldner barvicí souprava

pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení

**Pouze pro profesionální použití**

IVD Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro

CE

## Zamýšlený účel

Tato „Masson-Goldner barvicí souprava - pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení" se používá k buněčné diagnostice v oblasti humánní medicíny a slouží k histologickému vyšetření vzorků lidského původu.
Metoda barvení Masson-Goldner je trichromové barvení primárně používané k zobrazení pojivových struktur v orgánech. Jedná se o barvicí soupravu k přímému použití, která v kombinaci s jinými výrobky pro diagnostiku in vitro z našeho portfolia umožňuje hodnotit cílové struktury (prostřednictvím fixace, zalití, barvení, dobarvení, montování) v materiálech histologických vzorků, například histologické řezy jater, ledvin, střeva, placenty apod., pro diagnostické účely.
Nebarvené struktury mají naopak relativně nízký kontrast a je velmi obtížné je rozlišit pod světelným mikroskopem. V takových případech pomáhají autorizovanému a kvalifikovaném výzkumnému pracovníkovi lépe definovat formu a strukturu snímky získané použitím barvicích roztoků. Ke stanovení definitivní diagnózy mohou být nutná další vyšetření.

## Princip

Použitím kombinace tří různých barvicích roztoků lze selektivně vizualizovat svalová vlákna, kolagenní vlákna, fibrin a erytrocyty.
Původní metody se primárně používaly k odlišení kolagenních a svalových vláken. Použitá barviva mají různé molekulární velikosti a umožňují odlišné barvení jednotlivých tkání.

Technika barvení Masson-Goldner se provádí s použitím materiálů fixovaných formalinem. Po obarvení jádra Weigertovým železitým hematoxylinem se další komponenty, jako např. sval, cytoplasma a erytrocyty, barví roztokem azofloxinu a oranži G. Pojivová tkáň se poté dobarví pomocí světle zeleného roztoku SF.

## Materiál vzorku

Výchozím materiálem jsou tkáňové řezy zalité v parafinu (3–5 µm silné parafinové řezy).

## Činidla

| Kat. č. | Masson-Goldner barvicí souprava |
|---|---|
| 1.00485.0001 | pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení |

**Složky balení:**

Barvicí souprava obsahuje

| | | |
|---|---|---|
| Činidlo 1: | Roztok azofloxinu | 500 ml |
| Činidlo 2: | Roztok oranži G v kyselině wolframatofosforečné | 500 ml |
| Činidlo 3: | Světle zelený roztok SF | 500 ml |
| Činidlo 4: | Kyselina octová 10 % | 500 ml |

**Další potřebné materiály:**

| | | |
|---|---|---|
| Kat. č. 115973 | Souprava Weigertova železitého hematoxylinu pro jaderné barvení v histologii | 2 x 500 ml |

## Příprava vzorku

Odběr vzorku musí provést kvalifikovaný personál.

Se všemi vzorky je nutné nakládat za použití nejmodernější technologie.
Všechny vzorky musejí být jasně označené.
K odběru vzorků a jejich přípravě je nutné použít vhodné nástroje.
Dodržujte pokyny výrobce týkající se aplikace/použití.

Při použití odpovídajících pomocných činidel je třeba dodržovat příslušné pokyny k použití.

Řezy zbavte parafínu a rehydratujte obvyklým způsobem.

## Příprava činidla

Činidla Masson-Goldner souprava pro barvení - pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení jsou určena k přímému použití, ředění roztoků není nutné a pouze vede ke zhoršení výsledného barvení a jeho stability.

**Kyselina octová 1 %**

Na přípravu přibližně 100 ml roztoku smíchejte:

| | |
|---|---|
| Činidlo 4 (Kyselina octová 10 %) | 10 ml |
| Destilovaná voda | 90 ml |

**Barvicí roztok dle Weigerta - železitý hematoxylin**

Smíchejte Weigertův roztok A a Weigertův roztok B (z kat. č. 115973) v poměru 1 + 1.

Připravený barvící roztok zůstává stabilní přibližně jeden pracovní týden. Roztok je nutno vyměnit, jakmile se buněčná jádra zbarví dohněda.

## Postup

**Barvení v barvicí komůrce**

Histologická sklíčka zbavte obvyklým způsobem parafínu a rehydratujte je sestupnou alkoholovou řadou.

Uvedené časy by měly být dodrženy, aby byl zaručen optimální výsledek barvení.

| Sklíčko s histologickým vzorkem | |
|---|---|
| Barvicí roztok dle Weigerta - železitý hematoxylin | 5 min |
| Tekoucí vodovodní voda | 5 min |
| Kyselina octová 1 %* | cca. 30 s |
| Činidlo 1 (roztok azofloxinu) | 10 min |
| Kyselina octová 1 %* | cca. 30 s |
| Činidlo 2 (roztok oranži G v kyselině wolframatofosforečné) | 1 min |
| Kyselina octová 1 %* | cca. 30 s |
| Činidlo 3 (Světle zelený roztok SF) | 2 min |
| Kyselina octová 1 %* | cca. 30 s |
| Ethanol 70 % | 30 s |
| Ethanol 96 % | 30 s |
| Ethanol 100 % | 30 s |
| Ethanol 100 % | 30 s |
| Ethanol 100 % | 2 min |
| Xylen nebo Neo-Clear® | 5 min |
| Xylen nebo Neo-Clear® | 5 min |
| Vlhká sklíčka Neo-Clear® montujte za použití přípravku Neo-Mount®, případně xylenová vlhká sklíčka např. za použití přípravku Entellan® nový a krycího sklíčka. | |

* Čerstvou 1 % kyselinu octovou je nutné připravovat pravidelně.

**Upozornění:** Pokud je očekávaný výsledek barvení svalových vláken příliš slabý nebo není vůbec přítomen, měl by být vzorek **před** barvením a **po** rehydrataci inkubován v **Bouinově roztoku po dobu 30 min a při teplotě 37 °C**. Vzorek pak musí být propláchnut v destilované vodě. Při barvení se začíná roztokem hematoxylinu dle Weigerta (viz kapitolu „Postup").

Po odvodnění (vzestupnou alkoholovou řadou) a projasnění xylenem nebo přípravkem Neo-Clear® lze histologické preparáty zakrýt nevodným montážním médiem (např. Entellan® nový, Neo-Mount®) a krycím sklíčkem a následně uskladnit.

## Výsledek

| | |
|---|---|
| Buněčná jádra | tmavě hnědá až černá |
| Cytoplasma, sval | cihlově červená |
| Pojivová tkáň, kyselé mukózní substance | zelená |
| Erythrocyty | jasně oranžová |

## Odstraňování potíží

| Mikroskopický obraz | Možná příčina | Náprava |
|---|---|---|
| Slabé až žádné zabarvení struktur barvených světle zeleným barvivem SF | Příliš dlouhá inkubace vzorku v ethanolu vzestupné alkoholové řady, vymytí barviva | Dodržení stanovené inkubační doby |
| Slabé až žádné zabarvení svalových struktur | Barvivo se nedokázalo dostatečně vázat na buněčné struktury | Vzorek nechte před barvením inkubovat v Bouinově roztoku (viz pokyny v kapitole „Postup“) |

## Technické poznámky

Použitý mikroskop by měl splňovat požadavky zdravotnické diagnostické laboratoře.
Při používání histoprocesorů nebo automatizovaných barvicích systémů dodržujte prosím návod k použití poskytnutý dodavatelem systému a softwaru.

## Diagnostika

Stanovení diagnóz může provádět pouze autorizovaní a kvalifikovaní personál.
Je nutné používat platné nomenklatury.
Tuto metodu lze používat jako doplňkovou v diagnostice u lidí.
Další testy je nutné vybírat a používat na základě uznaných metod.
Pro zamezení nesprávným výsledkům by se u každé aplikace měly provádět vhodné kontroly.

## Skladování

Masson-Goldner barvicí soupravu - pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení uchovávejte při teplotě +15 až +25 °C.

## Doba použitelnosti

Masson-Goldner barvicí soupravu - pro vizualizaci pojivové tkáně pomocí trichromatického barvení lze použít až do uvedeného data použitelnosti.

Po prvním otevření lahvičky lze obsah používat až do uplynutí uvedené doby použitelnosti, je-li skladován při teplotě +15 °C až +25 °C.

Lahvičky musejí být vždy těsně uzavřené.

V případě skladování při teplotě +15 až +25 °C lze čerstvě připravený Weigertův železitý hematoxylin používat minimálně jeden pracovní týden. Roztok je nutno vyměnit, jakmile se buněčná jádra zbarví dohněda. Roztoky je však nutné zlikvidovat, pokud dojde k jejich kontaminaci (např. mykotické, bakteriální).

## Kapacita

Obsah balení stačí pro 400–500 aplikací.

## Další pokyny

**Pouze pro profesionální použití.**
Aby nedocházelo k chybám, smí aplikaci provádět pouze kvalifikovaný personál.
Je nutno dodržovat vnitrostátní směrnice týkající se bezpečnosti práce a zajištění kvality.
Je nutno používat standardně vybavené mikroskopy.

## Ochrana před infekcí

Je nutno přijmout účinná opatření na ochranu před infekcí v souladu s laboratorními směrnicemi.

## Pokyny ohledně likvidace

Balení musí být zlikvidováno v souladu se stávajícími směrnicemi týkajícími se likvidace.
Použité roztoky a roztoky po uplynutí doby použitelnosti je nutno likvidovat jako zvláštní odpad v souladu s místními směrnicemi. Informace ohledně likvidace lze získat pod rychlým odkazem „Hints for Disposal of Microscopy Products“ (Tipy pro likvidaci výrobků pro mikroskopii) na adrese www.microscopy-products.com. V rámci EU platí stávající příslušné NAŘÍZENÍ (ES) č. 1272/2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, měnící a rušící směrnice 67/548/EHS a 1999/45/ES a měnící nařízení (ES) č. 1907/2006.

## Pomocná činidla

| | | |
|---|---|---|
| Kat. č. 100579 | DPX nový<br>bezvodé montovací médium<br>pro mikroskopii | 500 ml |
| Kat. č. 100974 | Ethanol denaturovaný cca 1 % methylethylketonem<br>pro analýzu EMSURE® | 1 l, 2,5 l |
| Kat. č. 103699 | Imerzní olej Type N podle ISO 8036<br>pro mikroskopii | 100 ml kapací lahvička |
| Kat. č. 104699 | Imerzní olej<br>pro mikroskopii | 100ml kapací lahvička, 100 ml, 500 ml |
| Kat. č. 107961 | Entellan® nový<br>rychlé zalévací médium<br>pro mikroskopii | 100 ml, 500 ml, 1 l |
| Kat. č. 108298 | Xylen (isomerická směs)<br>pro histologii | 4 l |
| Kat. č. 109016 | Neo-Mount®<br>bezvodé montovací medium<br>pro mikroskopii | 100 ml kapací lahvička, 500 ml |
| Kat. č. 109843 | Neo-Clear® (náhražka xylenu)<br>pro mikroskopii | 5 l |
| Kat. č. 115973 | Souprava Weigertova železitého hematoxylinu pro jaderné barvení v histologii | 2 x 500 ml |

## Klasifikace rizik

Kat. č. 1.00485.0001

Řiďte se prosím klasifikacemi rizik vytisknutými na štítku a informacemi uvedenými v bezpečnostním listě.
Bezpečnostní list je dostupný na internetových stránkách a na požádání.

## Hlavní složky výrobku

Kat. č. 1.00485.0001

Činidlo 1

| | |
|---|---|
| C.I. 18050 | 6 g/l |
| $CH_3COOH$ | 3,1 g/l |

Činidlo 2

| | |
|---|---|
| C.I. 16230 | 20 g/l |
| $H_3[P(W_{12}O_{40})] \times H_2O$ | 40 g/l |

Činidlo 3

| | |
|---|---|
| C.I. 42095 | 5 g/l |
| $CH_3COOH$ | 2,1 g/l |

Činidlo 4

| | |
|---|---|
| $CH_3COOH$ | 105 g/l |

## Jiné výrobky pro IVD

| | | |
|---|---|---|
| Kat. č. 100496 | Formaldehydový roztok 4 %, pufrovaný, pH 6,9 (cca 10 % roztok formalínu) pro histologii | 350 ml a 700 ml (v lahvičce s širokým hrdlem), 5 l, 10 l, 10 l Titripac® |
| Kat. č. 109204 | Giemsova azur-eosin-methylenová modř<br>roztok<br>pro mikroskopii | 100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l |
| Kat. č. 115161 | Histosec® pastilky (bez DMSO)<br>bod tuhnutí 56-58 °C, zalévací médium<br>pro histologii | 10 kg (4 x 2,5 kg), 25 kg |

## Obecná poznámka

Pokud při používání tohoto zdravotnického prostředku nebo v důsledku jeho použití dojde k závažné nežádoucí příhodě, oznamte ji výrobci a/nebo jeho oprávněnému zástupci a příslušnému národnímu úřadu.

## Literaturu


1. Romeis - Mikroskopische Technik, Editors: Maria Mulisch, Ulrich Welsch, 2015, Springer Spektrum, 19. Auflage
2. Welsch Sobotta - Lehrbuch Histologie, Editor: Ulrich Welsch, 2006, ELSEVIER Urban&Fischer, 2. Auflage
3. Histotechnik, Gudrun Lang, 2013 Springer Verlag, 2. Auflage
4. Theory and Practice of Histological Techniques, John D Bancroft, Marilyn Gamble, 2008, Churchill Livingstone ELSEVIER, 6th Edition
5. Laboratory Manual of Histochemistry, Linda L. Vacca, 1985, Raven Press
6. Staining Procedures, George Clark, 1981, Williams&Wilkins, 4th Edition
7. Basiswissen Histologie und Zytologie, Karl Heinz Stein, Hellmut Flenker, 1998, uZv, 2. Auflage
8. Histological and Histochemical Methods, Theory and practice, J. A. Kiernan, 2015, Scion Publishing Ltd, 5th Edition
9. Conn's Biological Stains, R.W. Horobin, J.A. Kiernan, 2002, Biological Stain Commission Publication, 10th Edition

Viz návod k použití

Výrobce

Katalogové číslo

Kód šarže

Pozor, pročtěte si připojené dokumenty

Spotřebujte do RRRR-MM-DD

Teplotní omezení

Status: 2021-Jan-19


Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
**www.microscopy-products.com**

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321

Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 6J8
Phone: +1 800-565-1400