

Инструкция по выполнению методик по научному направлению «Патоморфология, гистология, цитология»

Разработал с.н.с., к.м.н. В.И.Демидов,
ответственный за выполнение данного блока методик

№2а

«PICO MALLORY TRICHROME»

04 – 021822

IVD Набор для in-vitro диагностики

Кодировка CND (словарь кодовых названий): W01030799

Количество исследований.....100

Время проведения исследования..... 40 минут

Срок действия.....2 года

Температура хранения.....15-25 °C

Температура транспортировки (комнатная температура)

Дополнительное оборудование не требуется

Предполагаемая цель	Набор для изготовления гистологических препаратов для оптической микроскопии.
Применение	Трехцветный краситель рекомендуется для срезов соединительной ткани
Принцип действия	Метод основан на том, что некоторые компоненты соединительной ткани избирательно окрашиваются, в соответствии с различной степенью тропности между красителями и тканевыми макромолекулами. В частности, соединительная ткань является ацидофильной вследствие наличия в составе большого количества основных групп; по этой причине ткань демонстрирует высокую степень сродства к кислым красителям (пикриновая кислота и G-оранж) и среднюю к слабым основным амфотерным красителям (кислый фусцин и пунцовый ксилидин). Основное значение придается фосфомолибденовой кислоте, которая действует как связующий элемент между тканевыми структурами, с которыми она связывается (коллагеновые волокна, клеточные мембраны) и анилиновым синим, основным амфотерным красителем.
Методика	1) Поместить срезы в дистиллированную воду. 2) Нанести на срез 5 капель реагента А и 5 капель реагента В : оставить на 10 минут для хода реакции. 3) Промыть срезы в дистиллированной воде. 4) Подсинить образцы в проточной воде в течение 10 минут. 5) Нанести на срез 10 капель реагента С , оставить на 2 минуты для реакции. 6) Промыть срезы в дистиллированной воде. 7) Нанести на срез 10 капель реагента D , оставить на 1 минуту для взаимодействия. 8) Промыть срезы в дистиллированной воде. 9) Нанести на срез 10 капель реагента Е , оставить на 15 минут для взаимодействия. 10) Промыть срезы в дистиллированной воде. 11) Нанести на срез 10 капель реагента F , оставить на 1 минуту для взаимодействия. 12) Немедленно! Дегидратировать в спиртах возрастающей концентрации,

	просветлить в ксилоле и заключить под покрывное стекло.
Результаты	Ядра..... темно-коричневый Коллагеновые волокна..... темно-синий Межуточное вещество хрящевой и костной ткани, слизь, базофильные гранулы гипофиза и амилоид..... различные оттенки голубого Фиброглия, нейроглия, аксоны и фибрин..... красный Ацидофильные гранулы гипофиза.....оранжевый Миелин и эритроциты.....желтый Эластические волокна.....от бледно-розового до желтого
Реагенты	А) Железный гематоксилин Вейгерта – раствор В..... .18 мл В) Железный гематоксилин Вейгерта – раствор А..... .18 мл С) Спиртовой раствор пикриновой кислоты.....30 мл D) Полихромный раствор пунцового фусцина.....30 мл Е) Раствор фосфомолибденовой кислоты.....30 мл F) Раствор анилинового синего.....30 мл
Опасности и меры предосторожности	Набор должен использоваться исключительно специально подготовленным техническим персоналом. Изделие классифицируется как опасное. Внимательно прочитайте информацию на заводской этикетке (знаки предостережения, фразы риска и предупреждающие надписи). Всегда обращайтесь к паспорту безопасности, где представлена информация о возможном возникновении опасных ситуаций, мерах предосторожности в процессе использования, аварийном ремонте и утилизации. Номер SDS (Safety Data Sheet, паспорт безопасности продукции): 021822
Условия хранения	Хранить при комнатной температуре. Держать контейнеры плотно закрытыми.
Стабильность	После того, как контейнер был открыт впервые, изделие следует использовать до истечения срока годности (в случае благоприятных условий хранения).
Утилизация	Опасный препарат: необходимо следовать государственному и местному законодательству, регламентирующему утилизацию отходов.
Справочные и нормативные документы	Lendum A.C., Mc Farlane D.A. Acontrolable modification of Mallory's trichromic staining method. J. Path. and Bact. – 1940. – Vol.50. – P.381-384.

021822L Комплект поставляется на заказ с комплектующими объемом 1000 мл.

Риск для опасных реагентов

В

R11-

Огнеопасно.

S7-16

Держать контейнер плотно закрытым. Держать вдали от источников горения – не курить.

С

R1-4-11

В сухом виде взрывоопасно. Образует крайне нестабильные взрывоопасные металлические соединения. Огнеопасно.

S7-16-35

Держать контейнер плотно закрытым. Держать вдали от источников горения – не курить.

Контейнер и его содержимое должны быть утилизированы безопасным путем.

№26
ИМПРЕГНАЦИЯ СЕРЕБРОМ
Для ретикулума

04-040801

IVD Медицинское диагностическое устройство in-vitro

Число тестов.....100
Время процедуры.....35 мин
Срок годности.....1 год
Температура хранения.....4°C
Температура транспортировки.....RT
Дополнительное оборудование.....не требуется

Предполагаемая цель

Приготовление препарата гистологических образцов для оптического микроскопа.

Назначение

Рекомендуемый метод для визуализации аргирофильных ретикулярных волокон соединительной ткани, особенно для дифференцировки коллагеновых волокон.

Принцип

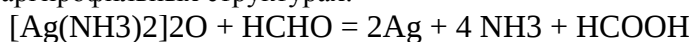
Этот метод производит селективную ясную импрегнацию за очень короткое время благодаря двум факторам: предварительной импрегнации с солями железа и использованию в качестве источника серебра нестабильного диаминового комплекса (аммонийного раствора), который более реактивен, чем нитрат серебра.

- 1) Предварительная обработка трёхвалентным железом.

После предварительного окисления с перманганатом калия, срез обрабатывается трёхвалентным железом (аммонийным сульфатом железа). Ионы железа, более реактивные, чем ионы серебра, быстро связываются с функциональными группами в аргирофильных структурах.

- 2) Обработка аммонийным раствором.

Серебро находится в аммонийном растворе в виде сложного гидрофильного оксида – $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{OH}$. Этот сложный катион серебра заменяет железо, предварительно связанное с тканью. На следующем этапе формальдегид выступает как редуцирующий агент: он удаляет кислород из комплекса и высвобождает металлическое серебро, которое депонируется на аргирофильных структурах.



Нередуцированный катион диамина серебра затем удаляется тиосульфатом натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Они формируют комплекс, который более растворим, но не может больше быть окислен.

Предупреждение

Для хороших результатов следуйте этим правилам:

- Всегда используйте превосходную и абсолютно не хлорированную дистиллированную или деионизированную воду.
- Используйте только очень чистую стеклянную посуду.
- Избегайте осаждения пыли на срезах. Никогда не соприкасайтесь растворы с металлическими предметами (пинцетами и т.д.).

Методика

- 1) Положите срез в дистиллированную воду.
- 2) Нанесите на срез 5 капель реагента А и 5 капель реагента В: оставьте на 5 минут.
- 3) Промойте предметное стекло дистиллированной водой.
- 4) Нанесите на срез 10 капель реагента С: оставьте на 3 минуты.
- 5) Дважды промойте дистиллированной водой.
- 6) Нанесите на срез 10 капель реагента D: оставьте на 3 минуты.
- 7) Дважды промойте дистиллированной водой.
- 8) Нанесите на срез 10 капель реагента E: оставьте на 3 минуты.
- 9) Промойте дистиллированной водой.
- 10) Нанесите на срез 10 капель реагента F: оставьте на 5 минут.
- 11) Дважды промойте дистиллированной водой.

- 12) Нанесите на срез 10 капель реагента G: оставьте на 5 минут.
- 13) Промойте водопроводной водой в течение 5 минут.
- 14) Проведите обезвоживание с помощью высококонцентрированного спирта: очистите в ксилоле и *установите* (заклучите в среду Bio-mount).

Результаты

Ретикулярные и нервные волокна.....чёрное
Соединительная ткань.....табачно-коричневое
Коллаген.....золотисто-жёлтый

Реагенты

- A) Раствор перманганата калия.....18 мл
- B) Кислотно-активный буфер.....18 мл
- C) Раствор щавелевой кислоты.....30 мл
- D) Раствор аммонийного сульфата железа.....30 мл
- E) Раствор аммония серебра.....30 мл
- F) Раствор нейтрального формалина.....30 мл
- G) Раствор фиксирующего гипосульфита натрия.....30 мл

Предупреждение и предосторожности

Продукт должен использоваться только специально обученными работниками.

Продукт классифицируется как опасный.

Внимательно прочтите информацию, написанную на этикетке (знаки опасности, риски и предостерегающие знаки).

Всегда учитывайте предостерегающие информационные карты, где доступна информация о риске препарата, мерах предосторожности в течение использования и первой помощи.

SDS номер: 040801

Хранение

Храните препарат при температуре 4°C. Контейнеры должны быть плотно закрыты.

Устойчивость

После открытия продукт годен до истечения срока годности, при соблюдении условий хранения.

Утилизация

Опасный препарат: следите за состоянием окружающей среды и соблюдайте правила в отношении утилизации отходов.

Список литературы

- Gomori G. The effect of certain factors on results of silver impregnation for Reticulum fibers. 1939, Am. J. Path., 15: 493-495.
- Gordon and Sweet H. A rapid method for the silver impregnation of reticulum. 1936, Am. J. Path., 12: 545-551.
- Wilder B C. An improved technique for silver impregnation for reticulum fibers. 1935, Am. J. Path., 11: 817-820.
- Peters A. A general purpose method of silver staining (part I impregnation, part II development, part III quantitative studies). 1955, Quart. J. micr. sci..

Риск для опасных реагентов

R40-43

Небольшие признаки канцерогенного эффекта. Может вызывать сенсibilизацию при контакте с кожей.

S26-36/37/39-45-51

При попадании в глаза немедленно промойте водой и следуйте медицинским советам. Надевайте защитную одежду, перчатки и защиту для лица/глаз. При несчастном случае или если почувствовали себя плохо, следуйте медицинским советам немедленно (смотри этикетку где необходимо). Использовать только в хорошо проветриваемых помещениях.