

Tricrômico de Masson (com azul de anilina)

Masson Trichrome (with aniline blue)

Código EP-11-20013

- Quantidade de testes : mínimo de 60 testes*
- Tempo total do procedimento : 40 minutos
- Validade do produto : ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 15 a 25°C (temperatura ambiente)
- Equipamentos complementares : Não necessita

Aplicação

Método recomendado para visualizar colágeno.

Princípio

São utilizados três diferentes corantes: hematoxilina para núcleos, uma mistura de corantes ácidos para citoplasma e azul de anilina para colágeno.

Método

1. Desparafinizar as lâminas em xilol por 5 minutos. Após, hidratar as lâminas em álcool 99%, 95%, 70% e lavar em água corrente.
2. Levantar as seções de tecidos em água destilada e após secar as lâminas.
3. Em um becker pequeno fazer a junção dos reagentes A + B na seguinte proporção: 10 gotas do reagente A + 10 gotas do reagente B. Cobrir o tecido com a solução obtida com esta junção. Deixar agir por 10 minutos.
4. Lavar as lâminas em água corrente por 1 minuto e secar.
5. Colocar na seção de tecido 10 gotas (ou o suficiente apenas para cobrir o corte) do reagente C. Deixar agir por 5 minutos.
6. Lavar as lâminas em água corrente e secar.
7. Colocar na seção de tecido 10 gotas (ou o suficiente apenas para cobrir o corte) do reagente D. Deixar agir por 10 minutos.
8. Lavar em água corrente e secar as lâminas.
9. Colocar na seção de tecido 10 gotas (ou o suficiente apenas para o cobrir o corte) do reagente E. Deixar agir por 7 minutos.
10. Lavar em água corrente e secar as lâminas.
11. Colocar na seção de tecido 10 gotas (ou o suficiente apenas para cobrir o corte) do reagente F. Deixar agir por 3 minutos.
12. Lavar em água corrente e desidratar rapidamente em série de álcool ascendente até o xilol e montar as lâminas com ERV-MOUNT.

* Quantidade de teste estimada conforme o tamanho do tecido a ser corado, quanto maior o tecido maior será o volume necessário para realizar a coloração e menor será a quantidade de testes. Veja maiores detalhes no verso "INSTRUÇÕES GERAIS".

Resultados (veja item coloração final no verso "INSTRUÇÕES GERAIS")

Núcleos preto
 Citoplasma, ceratina, fibras musculares, acidófilo..... vermelho
 Colágeno..... azul

Reagentes

A (tampa preta) - Hematoxilina Férrica.....30 ml D (tampa verde) - Ácido Fosfotúngstico + Fosfomolibdico.....30 ml
 B (tampa amarela) - Cloreto Férrico30 ml E (tampa azul) - Azul de anilina.....30 ml
 C (tampa vermelha) - Escarlata de Biebrich.....30 ml F (tampa branca) - Água-Ácido.....30 ml

Referências

Masson PJ. *Some histological methods: trichrome stainings and their preliminary technique*. 1929 J. Tech. Methods, 12: 75-90.
 Lillie RD. *Staining of connective tissue*. Arch Pat 1951; 54:220-223.
 Lillie RD. *Studies on selective staining of collagen with acid anilin dyes*. J Tech Methods 1945; 25: 1-47.
 Lillie RD. *Further experiments with the Masson trichrome modification of Mallory's connective tissue stain*. Stain Technol 1940; 15: 82.
 Armed Forces Institute of Pathology: *Laboratory Methods in histotechnology*. Washington D.C., A.F.I.P., 1994.

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados

O número mínimo de testes foi calculado com 10 gotas de reagente de cada kit, que permite cobrir facilmente seções de tecidos médias ou grandes, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos de 10 gotas, neste caso é necessário reduzir a quantidade de todos os outros reagentes para evitar desequilíbrios.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinizar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia do kit foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada Kit possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Todo Kit necessita do seguinte equipamento:

- Cuba de coloração horizontal ou uma bandeja de coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.
- Uma garrafa de lavagem (pulverizador) com água destilada para as lavagens requeridas na metodologia de cada kit, ou como alternativa, uma cuba vertical (jarra de Coplin) para as lavagens por imersão, comercializada pelo Grupo Erviegas código EP-51-30352.
- Duas séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:
- DESCENDENTE: para desparafinizar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.
- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Nas literaturas de cada kit constam os equipamentos complementares que podem ser necessários, e que não constam no Kit, mas que estão normalmente presentes em qualquer laboratório.

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos dos kits foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina. A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5) pode ser vantajosa em alguns métodos (por exemplo para os tricrômeros), mas não são aconselhadas para outros métodos.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

IVD – Diagnóstico In Vitro

Registro: 10039370005