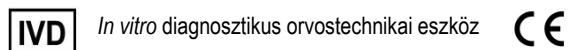


EA 65 REAGENS, PAP 3C



Citoplazma festő reagens Papanicolaou féle festéshez – vörös árnyalat

Nőgyógyászati és egyéb citológiai minták polikromatikus kontrasztfestéséhez

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

REF Katalógus szám: EA65C-OT-100 (100 mL) EA65C-OT-500 (500 mL) EA65C-OT-1L (1000 mL) EA65C-OT-2.5L (2500 mL)

Bevezetés

Az EA 65 Pap 3C két savas festék, az Eosin Y és a Light Green SF keveréke, hozzáadott Bismarc Brown festékkel és foszfovolfrámsavval (PTA). A Papanicolaou féle festés első lépése a hematoxylin oldattal történő magfestés, mely után a két lépéses kontraszt festés következik a monokromatikus OG-6 reagenssel és a polikromatikus EA reagenssel. Az Orange G molekula a citoplazmát festi, a festés későbbi szakaszaiban csak az érett, keratinizálódott sejtekben marad meg, melyek a narancs szín különböző árnyalataira festődnek. A harmadik lépésben a polikromatikus EA oldatok valamelyikét használva, az a nem festődött sejt elemekhez köt, mint a hámsejtek, nucleolusok, ciliumok és erythrocyták. A minták lehetnek nőgyógyászati és nem nőgyógyászati kenetek egyaránt, pl.: nyál, vizelet, aspirációs citológiai minta. Az optimális festődés érdekében az EA 65, Pap 3C reagens összetétele összhangban van az egyéb, BioGnost gyártású Papanicolaou féle módszerhez használt reagens összetételével, mint a Hematoxylin HP, Pap 1A reagens és az OG-6, Pap 2A reagens.

Termék leírása

EA 65, PAP 3C REAGENS - Citológiai minták polikromatikus kontrasztfestéséhez. BSC által tanúsított Eosin Y, Light Green SF és Bismarck Brown festékeket tartalmaz hozzáadott foszfovolfrámsavval, mely hormonális státusz szerint differenciál a sejtek citoplazmatikus festődését illetően. Az EA65 reagens az Eosin Y és Light Green SF koncentrációjában különbözik az egyéb BioGnost EA Pap reagensektől. Kis mennyiségű zöld festéket tartalmaz az EA31 formulából és világosabb, áttetszőbb citoplazmás jelölést biztosít.

A citológiai kenetek előkészítése

A citológiai minták levételének és elkészítésének két módja van:

1. A minta levétele után mikroszkóp tárgylemezre szélesszük szét, azonnal fixáljuk spray alapú fixálószerrel (CytoSpray-vel), szárítsuk meg, majd tároljuk festésig. A citológiai minta legalább 30 percen keresztül 95%-os alkoholba (Histanol 95) merítéssel is fixálható és tárolható festésig.
2. Folyadék alapú citológiai módszert (LBC) használva citológiai mintavevő ecset segítségével vegyünk mintát, majd azonnal fixáljuk azt (CitoFix) az ecset fejét letörve, azt eltávolítva és fixálószerbe merítve. A minta feldolgozásakor a sejteket a fixálótól el kell választani (ennek egyik módszere a centrifugálás), és mikroszkóp tárgylemezre szélesíteni egy sejt rétegben. Az így elkészített citológiai minta festésre kész.

A Papanicolaou festési módszer, PROGRESSZÍV

A festés első lépése attól függ, hogy a citológiai minta milyen módszerrel került levételre és a tárgylemezen fixálásra.

Ha a minta száraz és korábban CitoSpray-vel fixálásra került, 95%-os alkohol oldatba (Histanol 95) kell helyezni legalább 10 percre, hogy a polyglycolokat eltávolítsuk. Ha a minta 95%-os alkoholban fixált, ez a lépés elhagyható. A festés során az alacsonyabb alkoholkoncentrációval bíró oldatokkal, folyadék akapú citológiai módszerrel fixált mintákat nem szükséges leszálló alkoholsorozattal rehidrálni. A módszer desztillált vizes mosással kezdődik, majd a Hematoxylin HP, Pap 1A reagenssel festéssel folytatódik.

1. Rehidráljunk 3 váltás leszálló alkoholsorozattal (Histanol 95, Histanol 80, Histanol 70) és desztillált vízzel – 6-8 mártás mind a 4 váltásban

2. Fessünk Hematoxylin HP reagenssel - 15 másodperctől 3 percig

3. Kékszünk Scott's oldattal vagy Bluing reagenssel - 1 percig

Megjegyzés: Amennyiben a fenti reagensz egyike sem áll rendelkezésre, kévíthetünk folyó csapvízzel - 3-5 percig

4. Merítsük a metszeteket desztillált vízbe

5. Dehidráljunk felszálló alkohol sorozattal (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95) – 6-8 mártás 3 váltásban

6. Fessünk OG-6 vagy Orange II Pap reagenssel – 2 – 3 percig

7. Öblítsünk 2 váltás 95%-os alkoholban (Histanol 95) – 6-8 mártás mindkét váltásban

8. Fessünk EA 65, Pap 3C vagy EA 65 Pap3D reagenssel – 2-3 percig

9. Öblítsünk 95%-os alkoholban (Histanol 95) - 6-8 mártás

10. Dehidráljunk 100%-os alkoholban (Histanol 100) - 6-8 mártás

11. Dehidráljunk 100%-os alkoholban (Histanol 100) – 3 – 5 percig

12. Derítsük a metszeteket xylolban (BioClear) vagy xylol helyettesítő oldatban (BioClear New) - 6-8 mártás

13. Derítsük a metszeteket xylolban (BioClear) vagy xylol helyettesítő oldatban (BioClear New) – 3 – 5 percig

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedőanyaggal. Amennyiben BioClear xylolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xylol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xylol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

Papanicolaou festési módszer, REGRESSZÍV

A regresszív módszer előnye a jobb differenciálódás és a nukleáris struktúra jobb kimutathatósága.

A festés első lépése attól függ, hogy a citológiai minta milyen módszerrel került levételre és a tárgylemezen fixálásra.

Ha a minta száraz és korábban CitoSpray-vel fixálásra került, 95%-os alkohol oldatba (Histanol 95) kell helyezni legalább 10 percre, hogy a polyglycolokat eltávolítsuk. Ha a minta 95%-os alkoholban fixált, ez a lépés elhagyható. A festés során az alacsonyabb alkoholkoncentrációval bíró oldatokkal, folyadék alapú citológiai módszerrel fixált

mintákat nem szükséges leszálló alkoholsorozattal rehidrálni. A módszer desztillált vizes mosással kezdődik, majd a Hematoxylin HP, Pap 1A reagenssel festéssel folytatódik.

1. Rehidráljunk 3 váltás leszálló alkoholsorozattal (Histanol 95, Histanol 80, Histanol 70) és desztillált vízzel - 6-8 mártás mind a 4 váltásban

2. Fessünk Hematoxylin HP, Pap 1A reagenssel - 6 percig

3. Öblítsük a metszeteket desztillált vízzel - 6-8 mártás

4. Differenciáljunk HCl Pap reagenssel vagy 0.1% HCl oldattal - 5-10 másodpercig

Megjegyzés: Ezzel a lépéssel eltávolítható a sejtmagból és a citoplazmából a felesleges mennyiségű hematoxylin. Ha a differenciáló oldatban túl sokat tarjuk a metszetet, a sejtmagok elszíneződhetnek.

5. Öblítsük a metszeteket desztillált vízzel - 6-8 mártás

6. Kékszünk Scott's oldattal vagy Bluing reagenssel - 1 percig

Megjegyzés: Amennyiben a fenti reagentek egyike sem áll rendelkezésre, kékíthetünk folyó csapvízzel - 3-5 percig

7. Merítsük a metszeteket desztillált vízbe

8. Dehidráljunk felszálló alkohol sorozattal (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95) - 6-8 mártás mind a 3 váltásban

9. Fessünk OG-6, Pap 2A vagy Orange II, Pap 2B reagenssel - 3 percig

10. Öblítsünk 2 váltás 95%-os alkoholban (Histanol 95) - 6-8 mártás mind a 2 váltásban

11. Fessünk EA 65, Pap 3C vagy EA 65 Pap 3D reagenssel - 3 percig

12. Öblítsünk 95%-os alkoholban (Histanol 95) - 6-8 mártás

13. Dehidráljunk 100%-os alkoholban (Histanol 100) - 6-8 mártás

14. Dehidráljunk 100%-os alkoholban (Histanol 100) - 6-8 mártás

15. Derítsük a metszeteket xylolban (BioClear) vagy xylol helyettesítő oldatban (BioClear New) - 6-8 mártás

16. Derítsük a metszeteket xylolban (BioClear) vagy xylol helyettesítő oldatban (BioClear New) – 3-5 percig

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedőanyaggal. Amennyiben BioClear xylolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xylol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xylol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

Megjegyzés

Abban az esetben, ha kicsapódás tapasztalható a Hematoxylin HP, Pap 1A oldatban, vagy fémes réteg ül ki a folyadék felszínére, a reagent használat előtt szűrjük át. A festési eljárás időtartamai változtathatók. Az ajánlott festési eljárás a BioGnost reagentjeihez optimalizált és sokéves klinikai és laboratóriumi tapasztalaton alapuló módszer. A festés intenzitása a festékeknek és reagenteknek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás változtatható egyéni preferencia szerint amennyiben megfelel a citológiai technikák alapelveinek.

A festés eredménye

Pink-vörös – keratinizált sejtek citoplazmája, cyanofil (bazofil) citoplazma és eosinofil (acidofil) citoplazma

Vöröses barna – erythrociták

Kék – sötét lilás – nucleusok

Szürkés kék – mikroorganizmusok

Szürkés zöld - Trichomonas

A minta előkészítése és diagnosztika

A minta levételéhez és előkészítéséhez csak erre alkalmas eszközt használjon. A minták feldolgozása korszerű körülmények között és világos megjelöléssel végezhető. Mindig kövesse a gyártó használati útmutatóját. A hibák elkerülése érdekében a festési eljárást és annak kiértékelését arra jogosult és képzett szakszemélyzet végezze el. Kiértékeléshez az orvosi diagnosztikai laboratóriumok követelményrendszerének megfelelő mikroszkópot használjon.

Munka- és környezetvédelem

A terméket a munkavédelmi és környezetvédelmi irányelveknek megfelelően használja. A használt vagy lejárt szavatossági idejű oldatokat a nemzeti ajánlásoknak megfelelően veszélyes anyagként kell kezelni és megsemmisíteni. Az ehhez a festési eljáráshoz alkalmazott reagentek veszélyesek lehetnek az emberi egészségre. A folyamat során vizsgált minták fertőzésveszélyt jelenthetnek. Az emberi egészség megóvása érdekében a jó laboratóriumi gyakorlatnak megfelelő ajánlott védő intézkedések betartása javasolt. A termékek a rajtuk található figyelmeztető jelzéseknek, valamint a BioGnost termékbiztonsági adatlapjaiban leírtaknak megfelelően kezelendők.

Tárolás, stabilitás és lejárati idő

Az EA 65, Pap 3C oldat szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagens száraz helyen tartandó, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárati dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

1. Papanicolaou, G.N. (1941): Some improved methods for staining vaginal smears. J Lab Clin Med.

2. Papanicolaou, G.N. (1942): A new procedure for staining vaginal smears. Science.

3. Carson, F.L., Hladik C. (2009): Histotechnology: A self-instructional text, 3rd ed. ASCP Press.

EA65C-X, V6-EN6, 2 April 2019, IŠP/VR

	Lásd a mellékelt dokumentumon		Tárolási hőmérséklet		Tesztek száma csomagolásonként		Termékkód		Európai minősítés
	Lásd a mellékelt útmutatót		Hőtől és fénytől védve tárolandó		Minőségét megőrzi		Lot szám		Gyártó
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra		Száraz helyen tárolandó		Vigyázat, törékeny				

 BIOGNOST Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

