

BIO-DIFF KIT

IVD

In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz

CE**BIOGNOST®**

Három reagensből álló hematológiai festő készlet

Fixálószer, illetve vörös és kék festékkomponenseket tartalmaz a gyors és hatékony hematológiai jelölésért

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

REF Katalógus szám: BD-K-100 (3 x 100 ml) BD-K-500 (3 x 500 ml) BD-K-1L (3 x 1000 ml) BD-K-2.5L (3 x 2500 ml)

Bevezetés

A polychrom Romanowsky festékek a hematológiai vérkenetek és csontvelő minták festésének standard eljárásai. Számos típusú Romanowsky festék (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner és egyebek) tartalmaz különféle arányokban methylene kétkítő reagenst kationos komponensként (és a reagenssel rokon thiazine festékeket, mint az azure B) és eosin Y-t anionos komponensként. A kationos és anionos komponensek egymással reakcióba lépve hozzák létre a jól ismert Romanowsky effektust, amely nem elérhető az egyes komponenseket külön-külön alkalmazva. A lila szín jelzi az effektus létrejöttét. A festés intenzitása függ az azure B tartalomtól, illetve az azure B eosin Y aránytól, egyéb faktorok, melyek hatással vannak: munkaidő pH-ja, fixálás módja, puffer oldat típusa és a festés ideje. A Bio-Diff készlet rövid idő alatt festi meg a hematológiai preparátumokat és a May-Gruenwald Giemsa módszerhez hasonló precíz festést eredményez. A készlet minden eleme külön stabil és a legmagasabb standard szerint készült.

Termék leírása

- BIO-DIFF KIT** – Gyors és hatékony hematológiai festő készlet.

A festés során használatos egyéb eszközök, reagens:

- BioGnost immerziós olajok, például az Immersion oil vagy Immersion oil 37, A, C, FF típus, vagy Tropical Grade
- BioGnost puffer tabletták, pH 6.8 vagy 7.2.
- Hematológiában használatos tárgylemezek, mint a VitroGnost STANDARD GRADE, szövettanban és citológiában használatos magas minőségű tárgylemezek, mint a VitroGnost SUPER GRADE vagy a BioGnost több, mint 30 tárgylemez típusa közül bármelyik.

Az egyes reagens

- Bio-Diff 1 reagent – A Bio-Diff kit fixáló komponense, katalógus szám: BD1-OT-100, BD1-OT-110, BD1-OT-500, BD1-OT-1L
- Bio-Diff 2 reagent – A Bio-Diff kit vörös komponense, katalógus szám: BD2-OT-100, BD2-OT-110, BD2-OT-500, BD2-OT-1L
- Bio-Diff 3 reagent – A Bio-Diff kit kék komponense, katalógus szám: BD3-OT-100, BD3-OT-110, BD3-OT-500, BD3-OT-1L

A munkaoldatok elkészítése

- Puffer oldat (pH 6.8 vagy 7.2). Oldjon fel 1 db pH 6.8-as puffer tablettát 1 liter desztillált vízben keverés közben. Szűrje le az oldatot.

Vérkenet és csontvelő minta festési eljárása

1.	Hagyja a kenetet megszáradni	
	Megjegyzés: A perifériás vérkenetet egy friss vérmintából vétellel készítse	
2.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 1 reagensbe	5 x 1 másodperc
3.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
4.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 2 reagensbe	3 x 1 másodperc
	Megjegyzés: növelje az inkubációs időt, ha erősebb vörös/lilas árnyalat a cél	5 x 1 másodperc
5.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
6.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 3 reagensbe	6 x 1 másodperc
	Megjegyzés: csökkentse az inkubációs időt, ha erősebb vörös/lilas árnyalat a cél	5 x 1 másodperc
7.	Mossa a kenetet pH 6.8 puffer oldatban	1 perc (mozgatva)
8.	Száritsa meg a preparátumot	

Parazitológiai (Leishmania, Toxoplasma, Microsporadia) és mikrobiológiai (Cryptosporidium, Pneumocystis carinii) minta festési eljárása

1.	Merítse a tárgylemezt a Bio-Diff 1 reagensbe	1 perc
2.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
3.	Merítse a tárgylemezt a Bio-Diff 2 reagensbe	25 másodperc
4.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
5.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 3 reagensbe	25 másodperc
6.	Mossa a kenetet pH 7.2 puffer oldatban	1 perc (mozgatva)
7.	Száritsa meg a preparátumot	

Spermium festési eljárása

A spermium minta előkészítése: Adjon 15 µL friss mintát a tárgylemez egyik felszínére és készítsen vékony, homogén kenetet. Hagyja megszáradni (legalább 10 percig)

1.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 1 reagensbe	5 x 1 másodperc
2.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
3.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 2 reagensbe	5 x 1 másodperc
4.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
5.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 3 reagensbe	5 x 1 másodperc
6.	Mossa a kenetet pH 7.2 puffer oldatban	1 perc (mozgatva)
7.	Száritsa meg a preparátumot	

Amennyiben tartós preparátum elkészítése a cél, fedje a festett, megszáradt preparátumot a megfelelő típusú fedő médiummal (BioMount DPX), majd fedőlemezsel.

A festés eredménye

Fej – homogén sötét lila

Acrosoma - világoslila

Középső rész és fark – sötét lila

Háttér - világos pink

Szövettani metszetek festési eljárása

a) szövettani metszetek előkészítése a festésre

- Fixáljuk a mintákat (4% NB Formaldehyde, 10% NB Formaldehyde), öblítsük vízben és dehidáljuk felszálló alkoholsorozatban (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100).

- Derítsünk közbülső médiumban, xiloban (BioClear) vagy xilol helyettesítő oldatban (BioClear New).
- Itassuk át és öntsük ki a szövétmintát paraffinba (BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Micro).
- Metsszük a paraffin blokkot 4-6 µm vastagságú metszetekre, majd húzzuk fel a metszeteket VitroGnost tárgylemezre.

b) szövettani minta festése

Megjegyzés: ne használja a Bio-Diff 1 reagenst (ez nem szövettani preparátumok fixálására alkalmas)

1.	Deparaffinálja a metszetet xiloban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	3 váltás, mindegyikben 10 perc
2.	Rehidrálni 100%-os alkoholban (Histanol 100)	2 váltás, 5, illetve 3 perc
3.	Rehidrálni 95%-os alkoholban (Histanol 95)	2 perc
4.	Rehidrálni desztillált (vagy ioncserélt) vízben	2 perc
5.	Merítse a tárgylemezt a Bio-Diff 2 reagensbe és óvatosan mozgassa meg	7 másodperc
6.	Merítse a tárgylemezt a Bio-Diff 3 reagensbe és óvatosan mozgassa meg	5 másodperc
7.	Mossa a kenetet pH 7.2 puffer oldatban	1 perc (mozgatva)
8.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
9.	Dehidrálni 95%-os alkoholban (Histanol 95)	10 másodperc
10.	Dehidrálni 100%-os alkoholban (Histanol 100)	1 perc
11.	Derítse a metszeteket xiloban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	2 váltás, mindegyikben 5 perc

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

Citobacteriológiai minta festési eljárása (vizelet, punctatum, CSF)

1.	Hagyja a citológiai kenetet megszáradni	
2.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 1 reagensbe	5 másodperc
	Megjegyzés: a CSF mintát inkubálja tovább	1 perc
3.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
4.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 2 reagensbe	3 x 1 másodperc (CSF minta esetén 2 x 1 másodperc)
	Megjegyzés: növelje az inkubációs időt, ha erősebb vörös/lilás árnyalat a cél	5 x 1 másodperc
5.	A többlet reagenst szűrőpapírral távolítsa el a tárgylemezről	
6.	Merítse a kenetet a Bio-Diff 3 reagensbe	6 x 1 másodperc (CSF minta esetén 2 x 1 másodperc)
	Megjegyzés: csökkentse az inkubációs időt, ha erősebb vörös/lilás árnyalat a cél	5 x 1 másodperc
7.	Mossa a kenetet pH 6.8 puffer oldatban	1 perc (mozgatva)
8.	Szárita meg a preparátumot	

A festés eredménye (vérkenet)

Sejtmagok – vöröstől a liláig
 Lymphocyták – a sejtplazma kék
 Monocyták - a sejtplazma kékeszürke
 Neutofil granulocyták – világos lila
 Eosinofil granulocyták – élénk vöröstől a vörösesbarnáig
 bazofil granulocyták – sötétlilától a feketéig
 Thrombocyták – lila
 Erythrocyták – vöröses
 Vér élősködők – vörös (sejtmagok), kék (cytoplazma)

Megjegyzés

A festési időtartamok nem teljesen standardizáltak a klinikai és laboratóriumi gyakorlatban. Az ebben a használati útmutatóban javasolt festési időtartamok megfelelnek a hosszútávú használat során tapasztalt optimális festődéseknek. A festés intenzitása a festékeknek és reagenseknek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás egyéb protokollok alapján is elvégezhető egyéni preferenciának és prioritásoknak megfelelően.

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! A hibás eredmény elkerülése érdekében mindig végezzen pozitív és negatív kontroll vizsgálatot!

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 reagensek 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

A Bio-Diff Kit szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagenst ne tartsuk hidegben, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárati dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

1. Beck, R.C. (1938): Laboratory Manual of Hematological Technique, Philadelphia, W.B. Saunders & Co.
2. Dacie, J. et Lewis S. (1995): Practical haematology, 4th ed., London, Churchill Livingstone.
3. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, Zentralb f Bakt; 89, p 99-106.
4. Kiernan, J.A. (2008): Histological and histochemical methods: Theory and Practice, 4th ed., Bloxham, Scion Publishing Ltd.
5. May, R. et Grünwald L. (1909): Über die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode, Deutsche med Xschr, 35, p 1751-1752.

BD-X, V12-EN8, 2 May 2018, AK/VR

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

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

