

**EA 50 PAP Reagentas**

Tik in vitro diagnostikos tikslams

Reagentas citoplazmai dažyti naudojant Papanicolaou metodą – 3B Polichrominiam citologinių mėginių dažymui**Įvadas**

EA 50 Papa reagentas yra dviejų rūgštinių dažų alkoholinis tirpalas (Eosin Y ir Lighy Green SF) su papildomai pridėta fosfovolframo rūgštimi (PTA). Pirmo dažymo etapo metu hematoksilinu nudažomi branduoliai, o sekančių dviejų etapų metu naudojamas monochromatinis OG-6 reagentas ir vienas polichromatinis EA reagentas. Oranžinio G molekulės nudažo citoplazmą, o vėlesniuose etapuose jis pasilieka tik brandžiose (keratino) ląstelėse. Trečio etapo metu naudojamas vienas polichrominis EA tirpalas dažantis nenusidažiusius ląstelių komponentus: skvamozinės ląstelės, nukleolės, cilia, eritrocitai. Mėginio tipas gali būti ginekologinis ir ne ginekologinis arba citologiniai punktatai. Tikslu pasiekti optimalų dažymo rezultatą, EA 50 Pap reagentas (3B) pilnai suderintas su kitais BioGnost reagentais skirtais citologiniam dažymui Papanicolaou- Hematoxylin HP (A1) ir OG-6 Pap (2A) metodu.

Produkto aprašymas

EA 50 PAP reagentas - dviejų rūgštinių dažų alkoholinis tirpalas (Eosin Y ir Lighy Green SF) bei papildomai pridėta fosfovolframo rūgštimi (PTA). Santykis ir koncentracija Eosin Y ir Light Green SF dažų yra toks pat kaip skirtumas EA31 nuo kitų BioGnost EA Pap reagentų.

Citologinių tepinėlių paruošimas dažymui

Yra du dažymo metodai:

1. Paėmę citologinį mėginį, padėkite jį ant mikroskopinio stikliuko (VidroGnost), tuoj pat fiksokite tris kartus CitoSpry, išdžiovinkite ir saugokite iki dažymo. Citologinius mėginius galima fiksuoti ir saugoti iki dažymo proceso įmerkus 95% alkoholio tirpale (Histanol 95) ne mažiau kaip 30-čiai minučių.
2. Dirbant su skysta terpe (LBC) fiksokite mėginį nedelsiant (CitoFix, CitoFix transportinė terpė). Išimkite šepetėlį ir įmerkite jį į merkitę į fiksatorių. Proceso pradžioje išskirkite ląsteles iš tepės filtravimo arba centrifugavimo metodu ir tuomet užneškite jas ant stikliuko vienu sluoksniu. Taip paruošti citologiniai mėginiai toliau jau gali būti dažomi.

Progresinis dažymas Papanicolaou metodu

Pirmas žingsnis yra paimto citologinio mėginio fiksavimas ant mikroskopinio stikliuko.

Jei mėginys sausas ir prieš tai buvo fiksuotas su CitoSpry, nebūtina jo laikyti 10 % ir 95% alkoholio (Histanol 95) tirpaluose apie 10 minučių. Šio etapo metu pašalinami poliglikoliai. Jei pjūvis buvo fiksuota 95% alkoholio (Histanol 95) tirpalu, ignorokite šį etapą. Citologiniai mėginiai dažymui (jei naudojote LBC terpes) turi mažą koncentraciją alkoholio ir nereikia naudoti papildomų alkoholinių tirpalų. Darbas prasideda plaunant pjūvius distiliuotu/demineralizuotu vandeniu ir po to dažant Hematoksilinu HP.

1	Rehidravimas mažėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 95; Histanol 80 ir Histanol 70) ir distiliuotame/demineralizuotame vandenyje	6 - 8 įmerkimai kiekviename iš 4 talpų
2	Dažymas naudojant Hematoksiliną HP	nuo 15 sek. iki 3 min.
3	Melsvinimas (blankinimas) naudojant Scott's tirpalą arba Bluing reagentas	1 min.
Pastaba:	Jei neturite išvardintų reagentų, pjūvį galite melsvinti vandens srove.	3-5 min.
4	Dehidravimas skirtingos, didėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 70; Histanol 80; Histanol 95)	6-8 įmerkimai į visus tirpalus
5	Dažymas OG-6 PAP reagentu	2-3 min
6	Plovimas naudojant 95% alkoholiu iš dviejų talpų.	6-8 įmerkimai į 2 talpas.
7	Dažymas EA 31 PAP reagentu EA 50 PAP reagentu	2-3 min.
8	Plovimas naudojant 95% alkoholio tirpalą (Histanol 95)	6-8 įmerkimai
9	Dehidravimas 100% alkoholyje (Histanol100)	6-8 įmerkimai
10	Dehidravimas 100% alkoholyje (Histanol100)	3-5 min.
11	Paryškinimas ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitale (BioClear New)	6-8 įmerkimai
12	Paryškinimas ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitale (BioClear New)	3-5 min.

Paryškintą stikliukus nedelsiant padenkite juos dengiamąja medžiaga (BioMount). Jei naudojote BioClear ksileną, naudokite BioGnost dengimui skirtą ksileno pagrindu pagamintą terpę (BioMount, BioMount High, Biomount M, BioMount DPX, BioMount C ar universalią terpę BioMount New). Jei buvo naudojamas

Biagnost

BioMount Clear New, ksileno pakaitalas, tinkamiausi dengimui yra BioMount New. Uždenkite stikliukus dengiamaisiais stikliukais VitroGnost cover glass.

Pastabos

Jei dažymo metu atsiranda metalo spalvos nuosėdos, prieš darbą reagentą reikia filtruoti. Dažymo laikas nėra standartizuotas. Jis turi būti jums priimtinausias, kad tinkamai nudažytų stiklus su mėginiu.

Regresinis dažymo metodas

Dažant šiuo metodu geriau diferencijuojamas mėginys ir geriau išryškėja branduolio struktūra.

Jei mėginys sausas ir prieš tai buvo fiksuotas su CitoSpry, nebūtina jo laikyti 10 % ir 95% alkoholio tirpaluose apie 10 minučių. Šio etapo metu pašalinami poliglikoliai. Jei pjūvis buvo fiksuota 95% alkoholio (Histanol 95) tirpalu, ignoruokite šį etapą. Citologiniai mėginiai dažymui (jei naudojote LBC terpes) turi mažą koncentraciją alkoholio ir nereikia naudoti papildomų alkoholinių tirpalų. Darbas prasideda plaunant pjūvius distiliuotu/demineralizuotu vandeniu ir po to dažant Hematoksilinu HP.

1	Rehidravimas mažėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 95; Histanol 80 ir Histanol 70) ir distiliuotame/demineralizuotame vandenyje	6 - 8 įmerkimai kiekviename iš 4 talpų
2	Dažymas naudojant Hematoksiliną HP	3 -6 min.
3	Plaukite distiliuotu/demineralizuotu vandeniu	6-8 įmerkimai
4	Atskirkite (diferencijuokite) HCl PAP reagentu arba 0,1% HCl tirpalu.	5-10 sek.
Pas tab a:	Šio plovimo metu pašalinama perteklinis Hematoksilinas iš branduolio ir citoplazmos. Spalva gali išblukti, jei apruošėte atskyrimo reagentais per ilgai.	6-8 įmerkimai į visus tirpalus
5	Plaukite distiliuotu vandeniu	6-8 įmerkimai
6	Išblukinkite Scott's arba Bluing reagentu	1 min.
	Pastaba: Jei neturite šio reagento, blukinkite tiesiogine vandens srove.	3-5 min.
7	Dehidratuokite skirtingos, didėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 70; Histanol 80; Histanol 95)	6-8 įmerkimai į visus tirpalus
8	Dažykite OG-6 PAP reagentu	2-3 min.
9	Plaukite 95% alkoholio tirpalu dviejose talpose (Histanol 95)	6-8 įmerkimai į kiekvieną talpą
10	Dažykite naudodami EA 31 PAP reagentą arba EA 50 PAP reagentu	2-3 min.
11	Plaukite 95% alkoholio tirpalu (Histanol 95)	6-8 įmerkimai
12	Dehidratuokite 100% alkoholio tirpalu (Histanol100)	6-8 įmerkimai
13	Dehidratuokite 100% alkoholio tirpalu (Histanol100)	3-5 min.
14	Paryškinkite Ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitaluose (BioClear New)	6-8 įmerkimai
15	Paryškinkite Ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitaluose (BioClear New)	3-5 min.

Paryškinę stikliukus nedelsiant padenkite juos dengiamąja medžiaga (BioMount). Jei naudojote BioClear ksileną, naudokite BioGnost dengimui skirtą ksileno pagrindu pagamintą terpę (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ar universalią terpę BioMount New). Jei buvo naudojamas BioMount Clear New, ksileno pakaitalas, tinkamiausi dengimui yra BioMount New. Uždenkite stikliukus dengiamaisiais stikliukais VitroGnost cover glass.

Rezultatai

Branduoliai – mėlyni

Keratinizuotos ląstelės – geltono –oranžinės

Skvamozinio epitelio ląstelės, eritrocitai, nukleolės, žiuželiai (cilia) – rausvai-raudoni

Citoplazma ir kitos ląstelės (parabazalinės ir intermedialinės skvamozinės ląstelės, koloninės ląstelės, polimfonukleariniai leukocitai, limfocitai, histocitai, adenokarcinoma, neidentifikuotos karcinomos ląstelės)

Mėginio paruošimas ir diagnostika

Naudokite atitinkamas darbo priemones mėginiams surinkti. Paruoškite mėginius naudodami šiuolaikines technologijas ir paženklinkite juos aiškiai.







Sauga darbo vietoje ir aplinkos apsauga

Biognost

Dirbkite vadovaudamiesi saugaus darbo ir aplinkos apsaugos taisyklėmis. Visi darbo procese naudojami chemikalai ir jų tirpalai yra kenksmingi sveikatai. Informacija apie pavojus pateikta medžiagos saugos duomenų lapuose. Cheminės medžiagos esančios reagente gali būti pavojingos sveikatai.

Saugojimas, stabilumas ir galiojimo laikai

EA 50 tirpalas turi būti saugomas kambario temperatūroje 15-25°C. Nelaikykite šaltoje patalpoje, neužšaldykite, nelaikykite esant tiesioginiams saulės spinduliams. Produktas galioja iki datos nurodytos ant pakuotės.

CE	CE sertifikatas		Saugojimo temperatūra	Gamintojas Biognost Ltd. Medjugorska 5910040 Zagreb Croatia, www.biognost.com
	tik in vitro diagnostikos tikslais		Galiojimo data CCYY-MM-DD	
	Gamintojas		Darbo instrukcija	
	Lot kodas		Lakios medžiagos	

Tikslus vertimas iš anglų kalbos.

Vertė: Ž. Sukackienė

Data: 2018-04-24

UAB "Medfarmos" laboratorijos

P. Smuglevičiaus g. 1 Vilnius

Tel. 85 2700 101

