

OG-6-PAP REAGENTAS

In Vitro diagnostikai

OG6-OT-100; OG6-OT-110; OG6-OT-500; OG6-OT-1L; OG6-OT-2,5L

Citoplazmos dažymui skirtas reagentas pagal Papanicolaou – 2A

Monochromatiniai dengiamieji dažai citologiniams mėginiams

Naudojimo instrukcija

OG-6 Pap reagentas yra Orange G dažų alkoholio tirpalas su fosfotungine rūgštimi (PTA). Pirmas žingsnis, naudojant Papanicolaou dažymo metodą, skirtas branduoliui hematoksilino tirpalu dažyti, sekantys du žingsniai yra kontrastinis dažymas monochromatinio OG-6 reagentu ir vienu iš polichromatinių EA reagentų, turinčių du rūgštinius dažus Eosin Y ir light Green SF. Orange G molekulės nudažo citoplazmą ir sekančio etapo metu lieka tik jo likučiai, keratinizuotos ląstelės nusidažančios oranžine spalva. Trečio žingsnio metu vienas iš polichromatinių EA tirpalų nudažo nenusidažiusius ląstelių komponentus: skvamosines ląsteles, nukleoles, žiuželius ir eritrocitus. Dažyti galima ginekologinius ir ne ginekologinius mėginius tokius, kaip skrepliai, šlapimas, citologiniai punktatai. Tikslu pasiekti optimalų dažymo efektą, OG-6 PAP reagentai (2A) suderinami su kitais BioGnost dažais: Papanicolaou – Hematoxylin HP reagentas (1A), EA 31 PAP reagentas (3A) taip pat su alternatyviais kontrastiniais polichromatiniais dažais, EA 50 PAP (3B) ir EA PAP reagentas (3C).

Citologinių tepinėlių paruošimas dažymui

Yra du metodai tepinėliams surinkti ir paruošti:

1. Citologinius mėginius, užneškite ant mikroskopinio stiklelio (vitroGnost) ir nedelsiant fiksokite su CitoSpry, išdžiovinkite ir saugokite kol dažysite. Citologinius mėginius galima fiksuoti ir laikyti iki dažymo proceso. Tai atliekama įmerkus į 95% alkoholio tirpalą (Histanol 95) ne trumpiau kaip 30 minučių.
2. Dirbant skystos terpės citologijos metodu (LBC) ir naudojant specialius šepetėlius mėginiui paimti, mėginį fiksokite nedelsiant (CitoFix, Citoif ir transportiniuose konteineriuose). Šepetėlis turi būti įmestas į terpę. Darbo pradžioje, ekstrahuokite ląsteles iš fiksatoriaus (centrifūgavimo arba filtravimo metodai) ir užneškite ant mikroskopinio stikliuko (vienu sluoksniu). Dažykite paruoštą stiklą.

Progresinis dažymas Papanicolaou metodu

Pirmas žingsnis yra paimto citologinio mėginio fiksavimas ant mikroskopinio stikliuko.

Jei mėginys sausas ir prieš tai buvo fiksuotas su CitoSpry, būtina mėginį laikyti 10 % ir 95% alkoholio tirpaluose apie 10 minučių. Šio etapo metu pašalinami poliglikoliai. Jei pjūvis buvo fiksuotas 95% alkoholio (Histanol 95) tirpalu, ignorokite šį etapą. Dažant citologinius mėginius, kuriuose yra maža alkoholio koncentracija (jei naudojote LBC terpes) rehidratavimo procesui nereikia naudoti papildomų alkoholinių tirpalų. Darbas prasideda plaunant tepinėlius distiliuotu/demineralizuotu vandeniu ir po to dažant Hematoksilinu HP.

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

Išryškinę stikliukus, nedelsiant padenkite juos dengiamąja/tvirtinančia 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.

Biognost OG-6 PAP reagentas

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, mėginį būtina palaikyti 10 % į 95% alkoholio tirpalą 10-čiai 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	Drėkininkite mažėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 95, Histanol 80 ir Histanol 70) ir distiliuotame/demineralizuotame vandenyje	6 - 8 įmerkimai 4-iose talpose
2	Dažykite naudojant Hematoksiliną HP	3 -6 min.
3	Plaukite distiliuotu/demineralizuotu vandeniu	6-8 įmerkimai
4	Diferencijuokite HCl PAP reagentu arba 0,1% HCl tirpalu.	5-10 sek.
	Pastaba: 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	Blukinkite Scott's arba Bluing reagentu	1 min.
	Pastaba: Jei neturite šio reagento, blukinkite tiesiogine vandens srove.	3-5 min.
7	Džiovinkite skirtingos, didėjančios koncentracijos alkoholio tirpaluose (Histanol 70; Histanol 80; Histanol 95)	6-8 įmerkimai 3-ose talpose
8	Dažykite OG-6 PAP reagentu	2-3 min.
9	Plaukite 95% alkoholio tirpalu dviejose talpose (Histanol 95)	6-8 įmerkimai į dvi talpas
10	Dažykite naudodami EA 31 PAP reagentą arba EA 50 PAP reagentu	2-3 min.
11	Plaukite 95% alkoholio tirpalu dviejose talpose (Histanol 95)	6-8 įmerkimai
12	Dehidratuokite 100% alkoholio tirpalu (Histanol100)	6-8 įmerkimai
13	Dehidratuokite 100% alkoholio tirpalu (Histanol100)	3-5 min.
14	Ryškinkite Ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitaluose (BioClear New)	6-8 įmerkimai
15	Ryškinkite Ksilene (BioClear) ar ksileno pakaitaluose (BioClear New)	3-5 min.

Nedelsiant po ryškinimo pdenkite/tvirtinkite tepinėlių. Jei naudojate BioMount ksileną, tvirtinimui naudokite BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount C arba universalųjį BioMount New ksileną. Jei naudojote BioMount New ksileną, daenkite tepinėlių su BioMount New. Uždenkite dengiamuoju VitroGnost sikleliu.

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.

Rezultatai

Mėlyna spalva nusidažo – branduoliai

Gelsvai-oranžinė - keratino ląstelės

Rausvai-raudona – skvamosinės epitelio ląstelės, eritrocitai, nukleolės.

Žalia- citoplazma, tarpinės ląstelės (parabazalinės ir pereinamojo epitelio ląstelės, limfocitai, histocitai nediferencijuotos carcinomos l1stel4s ir kt.)

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

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.

Saugojimas, stabilumas ir galiojimo laikai

OG-6-PAP REAGENTAS turi būti saugomas kambario temperatūroje 15-25°C. Nelaikykite šaltoje patalpoje, neužšaldykite, nelaikykite esant tiesioginiams saulės spinduliams. Produktas galioja iki datos nurodytos ant pakuotės.

Biognost OG-6 PAP reagentas

	CE sertifikatas
	tik in vitro diagnostikos tikslais
	Gamintojas
	Lot kodas
	Saugojimo temperatūra
	Galiojimo data CCYY-MM-DD
	Darbo instrukcija
	Lakios medžiagos

Gamintojas

Biognost Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
Croatia

Tikslus vertimas iš anglų kalbos.

Vertė: Ž. Sukackienė

Data: 2018-04-24

UAB "Medfarmos" laboratorijos

P. Smuglevičiaus g. 1 Vilnius

Tel. 85 2700 101

