

BIO-DIFF RTU KOMPLET

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet od tri reagensa za brzo Ready-to-Use bojenje

Sadrži fiksacijsko sredstvo te crvenu i plavu komponentu za brzo i učinkovito bojenje

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: BD-RTU-100 (3 x 100 mL)

Uvod

BioGnostov Bio-Diff RTU komplet omogućuje brzo, jednostavno i kvalitetno bojenje po principu May Gruenwald-Giemsa bojenja. Osim za standardno bojenje krvnih razmaza, komplet se može primijeniti za bojenje parazita i gljivica, histoloških uzoraka uklopljenih u parafin te citoloških razmaza. Prednosti Bio-Diff RTU kompleta su: izrazito brzo bojenje od svega **14 sekundi** za krvne i citološke razmaze, praktičnost i jednostavnost zbog **polipropilenskih nepropusnih** posudica napunjenih sa 100 mL reagensa u koje se preparati izravno uranjaju, dovoljno za **100-200** testiranja, **tableta** za pripremu **puferske otopine** koje omogućuju dosljednost svakog obojenog preparata. Svaka komponenta Bio-Diff kompleta posebno je stabilizirana i pripremljena prema najvišim standardima.

Opis proizvoda

BIO-DIFF RTU KOMPLET – Komplet za brzo i učinkovito bojanje hematoloških, citoloških, histoloških, parazitoloških te mikoloških uzoraka.

Komplet sadrži:	100-200 testiranja (BD-RTU-100)
Bio-Diff 1 RTU reagens	100 mL (BD1-RTU)
Bio-Diff 2 RTU reagens	100 mL (BD2-RTU)
Bio-Diff 3 RTU reagens	100 mL (BD3-RTU)
Puferska tableta pH 6,8	2 komada
Puferska tableta pH 7,2	2 komada

Priprema otopina

Puferska otopina pH 6,8 ili pH 7,2

Otopiti 1 pufersku tabletu u 1 litri destilirane vode uz miješanje. Otopinu filtrirati.

Postupak bojanja krvnog razmaza/uzorka koštane srži

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
	Napomena: Razmaz periferne krvi pripremiti od svježe izvađenog krvnog uzorka	
2.	Uroniti preparat u Bio-Diff 1 RTU reagens	5 x 1 sekundu
3.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
4.	Uroniti preparat u Bio-Diff 2 RTU reagens	3 x 1 sekundu
	Napomena: produžiti vrijeme inkubacije ukoliko želite jaču nijansu crvene/ljubičaste boje preparata	do 5 x 1 sekundu
5.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
6.	Uroniti preparat u Bio-Diff 3 RTU reagens	6 x 1 sekundu
	Napomena: smanjiti vrijeme inkubacije ukoliko želite jaču nijansu crvene/ljubičaste boje preparata	5 x 1 sekundu
7.	Isprati preparat u puferskoj otopini pH 6,8	1 minutu (uz agitaciju)
8.	Osušiti preparat na zraku	

Postupak bojanja parazitoloških (Leishmania, Toxoplasma, Microsporadia) i mikrobioloških uzoraka (Cryptosporidium, Pneumocystis carinii)

1.	Uroniti preparat u Bio-Diff 1 RTU reagens	1 minuta
2.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
3.	Uroniti preparat u Bio-Diff 2 RTU reagens	25 sekundi
4.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
5.	Uroniti preparat u Bio-Diff 3 RTU reagens	25 sekundi
6.	Isprati preparat u puferskoj otopini pH 7,2	1 minutu (uz agitaciju)
7.	Osušiti preparat na zraku	

Postupak bojanja spermija

Priprema razmaza spermija: 15 µL svježeg uzorka spermija kapnuti na jedan kraj predmetnog stakalca i napraviti tanak i homogen razmaz. Pustiti da se osuši na zraku (barem 10 minuta).

1.	Uroniti preparat u Bio-Diff 1 RTU reagens	5 x 1 sekundu
2.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
3.	Uroniti preparat u Bio-Diff 2 RTU reagens	5 x 1 sekundu
4.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
5.	Uroniti preparat u Bio-Diff 3 RTU reagens	5 x 1 sekundu
6.	Isprati preparat u puferskoj otopini pH 7,2	1 minutu (uz agitaciju)
7.	Osušiti preparat na zraku	

Kako bi napravili trajni preparat, na obojeni i osušeni preparat nanijeti odgovarajuću vrstu DPX medija (BioMount DPX sredstvo za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla). Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Rezultat

Glava spermija – homogena tamno ljubičasta boja
 Akrosom spermija – blijedo ljubičasta boja
 Srednji dio spermija i rep – tamno ljubičasta

Pozadina – blijedo ružičasta boja

Postupak bojenja histoloških preparata

a) priprema histološkog preparata

Uzorak tkiva kvalitetno fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).

Prosvijetliti preparat intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).

Infiltrirati i uklopiti preparat u parafin (BioWax Plus 56/58, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).

Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost Super Grade predmetno staklo.

b) bojenje histološkog preparata

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 10 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Uroniti preparat u Bio-Diff 2 RTU reagens i lagano miješati	7 sekundi
6.	Uroniti preparat u Bio-Diff 3 RTU reagens i lagano miješati	5 sekundi
7.	Isprati puferskom otopinom pH 7,2	1 minutu (uz agitaciju)
8.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
9.	Dehidirati i diferencirati u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95) uz lagano miješanje	10 sekundi
10.	Dehidrirati preparat u 100%-tni alkohol (Histanol 100)	1 minuta
11.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 5 minuta

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Postupak bojanja citobakterioloških uzoraka (urin, punktati, CSF)

1.	Osušiti citološki uzorak na zraku	
2.	Uroniti preparat u Bio-Diff 1 RTU reagens	5 sekundi
	Napomena: CSF duže inkubirati	1 minutu
3.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
4.	Uroniti preparat u Bio-Diff 2 RTU reagens	3 x 1 sekundu (CSF 2 x 1 sekundu)
	Napomena: produžiti vrijeme inkubacije ukoliko želite jaču nijansu crvene/ljubičaste boje preparata	do 5 x 1 sekundu
5.	Ocijediti višak reagensa s preparata na filter papir	
6.	Uroniti preparat u Bio-Diff 3 RTU reagens	6 x 1 sekundu (CSF 2 x 1 sekundu)
	Napomena: smanjiti vrijeme inkubacije ukoliko želite jaču nijansu crvene/ljubičaste boje preparata	5 x 1 sekundu
7.	Isprati preparat u puferskoj otopini pH 7,2	1 minutu (uz agitaciju)
8.	Osušiti preparat na zraku	

Rezultat (krvni razmaz)

Jezgre – crvena do ljubičasta boja

Limfociti – plazma plavo obojana

Monociti – plazma sivkasto plavo obojana

Neutrofilni granulociti –svijetlo ljubičasto obojani

Eozinofilni granulociti –žarko crveno do crvenkasto smeđe obojani

Bazofilni granulociti – tamno ljubičasto do crno obojani

Trombociti – ljubičasta boja

Eritrociti – crvena boja

Krvni paraziti – jezgra crveno obojana, a citoplazma plavo obojana

Napomena

Vremenski periodi postupka bojanja nisu u potpunosti standardizirani u kliničkoj i laboratorijskoj praksi. Periodi navedeni u Uputi okvirno odgovaraju dugogodišnjem načinu rada s optimalnim rezultatima. Intenzitet obojenja ovisi o duljini izlaganja preparata boji. Realni protokol bojanja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti upute proizvođača za primjenu/upotrebu. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu sa nacionalnim smjernicama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Bio-Diff RTU komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na sobnoj temperaturi. Ne držati na hladnom, ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

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, *Zentralbl f Bakt*; 89, str. 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, str. 1751-1752.

BD-RTU-100, V8, 02.05.2018., AK/VR

 Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju	 Temperaturni raspon čuvanja	 Broj testova u pakovanju	 REF Kataloški broj	 Europska sukladnost
 Pročitati priloženu uputu	 Čuvati od topline i sunčevog svjetla	 Vrijedi do	 LOT Broj serije	 Proizvođač
 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Čuvati na suhom	 Oprez lomljivo		

 BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

