

EA 31 REAGENS, PAPA 3A



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Polikromatski reagens za bojenje citoplazme prema Papanicolaou

UPUTA ZA RUKOVANJE

| | | | | | |
|--------------------|-------------------------|----------------|--------------------|---------|----------------|
| OSNOVNI UDI broj | 385889212HPC30708STARVF | | | | |
| EMDN kód | W01030708 | | | | |
| REF Kataloški broj | Volumen | UDI-DI broj | REF Kataloški broj | Volumen | UDI-DI broj |
| EA31-OT-100 | 100 mL | 03858890000351 | EA31-OT-1L | 1000 mL | 03858888821890 |
| EA31-OT-500 | 500 mL | 03858888821883 | EA31-OT-2.5L | 2500 mL | 03858888821876 |



Namjena proizvoda i načelo testiranja

EA 31 reagens, Papa 3A alkoholna je otopina dviju kiselih boja, ružičaste Eosin Y i zelene boje, uz dodatak fosfovolframove kiseline (PTA). Prvi korak bojenja metodom po Papanicolaou podrazumijeva bojenje jezgre otopinom hematoksilina, a sljedeća dva koraka kontrastno bojenje monokromatskim OG-6 i jednom od formulacija polikromatskih EA reagensa. Orange G molekula boji citoplazmu, pri čemu se daljnjim postupkom rada zadržava samo u zrelih, keratiniziranim stanicama. U trećem koraku korištena je jedna od polikromatskih EA otopina koja boji neobojene dijelove stanice poput pločastih stanica, nukleola, treptaljka i eritrocita. Uzorci za ispitivanje mogu biti ginekološki i neginekološki, kao što su ispljuvak, urin, uzorci dobiveni citološkom punkcijom. U cilju dobivanja optimalnih rezultata bojenja, EA 31 reagens, Papa 3A je karakteristikama u potpunosti usklađen s ostalim BioGnostovim reagensima za citološko bojanje po Papanicolaou metodi – Hematoksilin HP, Papa 1A reagensom i OG-6 reagensom, Papa 2A.

Opis proizvoda

- EA 31 REAGENS, PAPA 3A - Kontrastna boja za polikromatsko bojenje ginekoloških uzoraka u citologiji. Sadrži BSC certificirane boje Eosin Y i Light Green SF s fosfovolframovom kiselinom i potrebnim stabilizatorima. Razlikuje se od ostalih BioGnostovih EA Papa reagensa po koncentraciji i odnosu Eosin Y i Light Green SF boje.

Primjer upotrebe EA 31 REAGENS, PAPA 3A

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostove Citospray otopine
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za bistrenje poput BioClear ksilena ili BioClear New supstituta ksilena na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala poput BioGnostovih BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount DPX New, BioMount C, BioMount Aqua
- VitroGnost predmetna i pokrovna stakla za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za umeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostovi reagensi za Papa bojenje: Hematoksilin HP, Papa 1A i OG-6, Papa 2A reagens

Priprema citološkog razmaza za bojenje

Postoje dva načina uzimanja i pripreme citoloških uzoraka:

- Citološki uzorak nakon uzimanja brisa nanijeti na predmetno staklo (VitroGnost), odmah fiksirati sredstvom za fiksaciju u bočici s raspršivačem (CitoSpray), osušiti i čuvati do postupka bojenja. Citološki uzorak se također može fiksirati i čuvati do bojenja i uranjanjem u 95%-tnu alkoholnu otopinu (Histanol 95) na minimalno 30 minuta.
- Metodom tekuće citologije (LBC, Liquid-Based Cytology) pomoću četkice za uzimanje citoloških uzoraka, uzorak odmah fiksirati (CitoFix, CitoFix u transportnim posudama) odvajanjem glave četkice i uranjanjem u fiksacijsko sredstvo. Na početku obrade citološkog uzorka, stanice izdvojit iz fiksacijske tekućine (jedan od načina jest centrifugiranje fiksacijske tekućine) te ih nanijeti na predmetno staklo i to tako da su stanice jednoliko raspoređene u jednom sloju. Ovako pripremljeni citološki uzorak spreman je za bojenje.

Postupak bojenja citoloških uzoraka prema Papanicolaou metodi

Početak postupka bojenja ovisi o načinu na koji je citološki uzorak prikupljen i fiksiran na mikroskopsko predmetno staklo.

Ukoliko je uzorak suh i prethodno fiksiran CitoSpray sredstvom, prije bojenja potrebno ga je držati 10 minuta u 95% alkoholu (Histanol 95) radi uklanjanja poliglukola. Ukoliko je preparat fiksiran 95%-tnom alkoholnom otopinom (Histanol 95), ovaj korak je suvišan. Prilikom postupka bojenja citoloških uzoraka pripremljenih metodom tekuće citologije (LBC) koji sadrže nisku koncentraciju alkohola, rehidracija silaznim nizom alkoholnih otopina nije potrebna. Postupak započinje ispiranjem preparata destiliranom (demi) vodom, te se nastavlja postupkom bojenja Hematoksilinom HP, Papa 1A.

NAPOMENA

Nanijeti reagens da u potpunosti prekrije preparat.

A) progresivna metoda bojenja

| | | |
|-----|--|----------------------------------|
| 1. | Rehidracija u silaznom nizu alkohola (Histanol 95 i Histanol 70) i u destiliranoj/demineraliziranoj vodi | 10 urona u svakoj od 3 izmjene |
| 2. | Bojenje Hematoksilin HP, Papa 1A reagensom | 30 sekundi |
| | Napomena: Duže izlaganje preparata Hematoksilin HP, Papa 1A reagensu može osim jezgre obojiti i citoplazmu | |
| 3. | Ispiranje u destiliranoj/demineraliziranoj ili vodovodnoj vodi | 30 sekundi |
| 4. | Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom | 1 minuta |
| | Napomena: U nedostatku navedenih reagensa, preparat plaviti pod indirektnim mlazom tekuće vode | 3-5 minuta |
| 5. | Dehidracija u uzlaznom nizu alkohola (Histanol 70 i Histanol 95) | 10 urona u svakoj od 2 izmjene |
| 6. | Bojenje OG-6, Papa 2A reagensom | 2 minute |
| 7. | Ispiranje u 95%-tnom alkoholu kroz dvije izmjene (Histanol 95) | 30 sekundi u svakoj od 2 izmjene |
| 8. | Bojenje EA 31, Papa 3A reagensom | 4 minute |
| 9. | Ispiranje i dehidracija u 95%-tnom alkoholu kroz dvije izmjene (Histanol 95) | 1 minuta u svakoj od 2 izmjene |
| 10. | Dehidracija u 100%-tnom alkoholu kroz dvije izmjene (Histanol 100) | 1 minuta u svakoj od 2 izmjene |
| 11. | Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena kroz dvije izmjene (BioClear New) | 2 minute u svakoj od 2 izmjene |

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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

B) regresivna metoda bojenja

Regresivnom metodom bojenja u pravilu se postiže bolja diferenciranost uzorka i jasnija vidljivost jezgrinih struktura

| | | |
|----|--|--------------------------------|
| 1. | Rehidracija u silaznom nizu alkohola (Histanol 95 i Histanol 70) i u destiliranoj/demineraliziranoj vodi | 10 urona u svakoj od 3 izmjene |
|----|--|--------------------------------|

| | | |
|-----|--|----------------------------------|
| 2. | Bojenje Hematoksilin HP, Papa 1A reagensom | 4 minute |
| 3. | Ispiranje u destiliranoj/demineraliziranoj ili vodovodnoj vodi | 30 sekundi |
| 4. | Diferencijacija HCL Papa reagensom ili u 0,1%-tnoj otopini HCl-a | 5-10 sekundi |
| | Napomena: Ovim korakom uklanja se višak hematoksilina iz jezgre i citoplazme. Ako je preparat predugo tretiran sredstvom za diferencijaciju, može doći do obezbojenja jezgri | |
| 5. | Ispiranje u destiliranoj/demineraliziranoj ili vodovodnoj vodi | 10 urona |
| 6. | Plavljenje Scottovom otopinom ili Bluing reagensom | 1 minuta |
| | Napomena: U nedostatku navedenih reagensa, preparat plaviti pod indirektnim mlazom tekuće vode | |
| 7. | Dehidracija u uzlaznom nizu alkohola (Histanol 70 i Histanol 95) | 10 urona u svakoj od 2 izmjene |
| 8. | Bojenje OG-6, Papa 2A reagensom | 2 minute |
| 9. | Ispiranje u 95%-tnom alkoholu kroz <u>dvije</u> izmjene (Histanol 95) | 30 sekundi u svakoj od 2 izmjene |
| 10. | Bojenje EA 31, Papa 3A reagensom | 4 minute |
| 11. | Ispiranje i dehidracija u 95%-tnom alkoholu kroz <u>dvije</u> izmjene (Histanol 95) | 1 minuta u svakoj od 2 izmjene |
| 12. | Dehidracija u 100%-tnom alkoholu kroz <u>dvije</u> izmjene (Histanol 100) | 1 minuta u svakoj od 2 izmjene |
| 13. | Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena kroz <u>dvije</u> izmjene (BioClear New) | 2 minute u svakoj od 2 izmjene |

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 supstitut ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

Napomena

Ukoliko je došlo do taloženja u otopini Hematoksilina HP, Papa 1A ili formiranja metalnog sjaja na površini, reagens je potrebno prije upotrebe filtrirati.

Rezultat

Jezgre – plava boja

Keratinizirane stanice - žuto-narančasta boja

Superficialne epitelne pločaste stanice, eritrociti, nukleoli, trepetljike - ružičasto-crvena boja

Citoplazma svih drugih tipova stanica (parabazalnih i intermedijarnih pločastih stanica, cilindričnih stanica, polimorfonuklearnih leukocita, limfocita, histiocita, adenokarcinoma, nediferenciranih stanica karcinoma) - zelena boja

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka bojenja opisanog u BioGnostovoj Uputi za korištenje, mogu uzrokovati razlike u rezultatima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Ukoliko tijekom upotrebe ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

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 s nacionalnim smjernicama. Reagensi korišteni 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, uputi za rukovanje te u sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktno sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

- Carson, F.L., Hladik C. (2009): Histotechnology: A self-instructional text, 3rd ed. ASCP Press.
- Papanicolaou, G.N. (1941): Some improved methods for staining vaginal smears. J Lab Clin Med.
- Papanicolaou, G.N. (1942): A new procedure for staining vaginal smears. Science.
- Sherwani, R.K., Khaqn, T. et al. (2007): Conventional Pap Smear and Liquid Based Cytology for Cervical Cancer Screening – A Comparative Study, Journal of Cytology, 24 (4): str. 167-172.

| Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu: | |
|---|---|
| | H225 H302 Lako zapaljiva tekućina i para. Štetno ako se proguta. |
| | P210 Čuvati odvojeno od topline/iskre/otvorenog plamena/vrućih površina. – Ne pušiti. |
| | P233 Čuvati u dobro zatvorenom spremniku. |
| | P280 Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. |
| | P301 + P312 AKO SE PROGUTA: u slučaju zdravstvenih tegoba nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika |
| | P501 Odložiti sadržaj/spremnik odlagalištu opasnog ili posebnog otpada |

EA31-IFU_HRV29, 09.04.2026., IŠP

| | | | | | | | |
|--|-------------------|--|--------------------------|--|--|--|--------------------------------------|
| | Proizvođač | | Broj serije | | Pročitati priloženu uputu | | Europska sukladnost |
| | Datum proizvodnje | | Kataloški broj | | Oprez | | Jedinstvena identifikacija proizvoda |
| | Rok uporabe | | Temperaturno ograničenje | | Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu | | |

BioGnost d.o.o.
Međugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.blognost.com

| Verzija | Opis / razlog izmjene | Datum |
|---------|--|-------------|
| 29 | Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR | 09.04.2026. |