

EA 50 REAGENS, PAPA 3B



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
EA50-OT-100	100 mL	03858888828745	EA50-OT-2.5L	2500 mL	03858888821968
EA50-OT-500	500 mL	03858888821920	EA50-OT-5L	5000 mL	03858892120484
EA50-OT-1L	1000 mL	03858888821937	EA50-OT-20L	20000 mL	03858890001853



Namjena proizvoda i načelo testiranja

EA 50 reagens, Papa 3B alkoholna je otopina dviju kiselih boja, ružičaste Eosin Y i zelene boje, uz dodatak fosfovolfarmove 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, trepetljika 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 50 reagens, Papa 3B je karakteristikama u potpunosti usklađen s ostalim BioGnostovim reagensima za citološko bojenje po Papanicolaou metodi – Hematoksilin HP, Papa 1A i OG-6 reagens, Papa 2A.

Opis proizvoda

- EA 50 REAGENS, PAPA 3B** – polikromatski reagens za bojenje ginekoloških uzoraka u citologiji. Sadrži ružičastu Eosin Y i zelenu boju s fosfovolfarmovom kiselinom i potrebnim stabilizatorima. Razlikuje se od ostalih BioGnostovih EA Papa reagensa po koncentraciji i odnosu Eosin Y i zelene boje.

Primjer upotrebe EA 50 REAGENS, PAPA 3B

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 imeriziju 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 poliglikola. 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 (demi) 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 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 50, Papa 3B 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 ksilen (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 (demi) vodi	10 urona u svakoj od 3 izmjene
2.	Bojenje Hematoksilin HP, Papa 1A reagensom	4 minute
3.	Ispiranje u destiliranoj 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 vodi 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 50, Papa 3B 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

1. Papanicolaou, G.N. (1941): Some improved methods for staining vaginal smears. J Lab Clin Med.
2. Papanicolaou, G.N. (1942): A new procedure for staining vaginal smears. Science.
3. Carson, F.L., Hladik C. (2009): Histotechnology: A self-instructional text, 3rd ed. ASCP Press.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:		
	H225	Lako zapaljiva tekućina i para.
	H302	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

EA50-IFU_HRV27, 13.01.2026., 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.biognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
27	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	13.01.2026.