

LEISHMAN OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Polikromatska otopina eozina, metilenskog modrila i azurnih boja Za bojenje u hematologiji i kliničkoj citologiji

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: LE-OT-100 (100 mL) LE-OT-500 (500 mL) LE-OT-1L (1000 mL)

Uvod

Polikromatske Romanowsky boje standardno se koriste u hematologiji i citologiji. Razne vrste Romanowsky boja (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner) sadrže različite omjere metilenskog modrila kao kationske komponente (i njemu srodnih tiazinskih boja poput azura B) i eozina Y kao anionske komponente. Međudjelovanjem kationske i anionske komponente stvara se poznati Romanowsky efekt, a iskazuje se stvaranjem ljubičaste boje. Intenzitet obojenja ovisi o sadržaju azura te omjeru azura i eozina Y dok na sam rezultat bojenja utječe nekoliko čimbenika: pH vrijednost radne otopine te puferne otopine, način fiksacije te vrijeme izlaganja boji.

Opis proizvoda

LEISHMAN OTOPINA – Otopina eozina, metilenskog modrila i azura u metanolu

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja:

- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili VitroGnost COLOR ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- Reagensi za fiksaciju poput BioGnostovog Histanola M
- BioGnostovo Imerzijsko ulje
- BioGnostove Puferne tablete pH 6,8 ili 7,2

Priprema otopina

Nerazrijeđenu Leishman otopinu filtrirati prije upotrebe.

Puferne otopine

Puferna otopina pH 6,8 (za bojenje hematoloških i citoloških razmaza).

Puferna otopina pH 7,2 (za bojenje hematoloških razmaza u kojima se očekuju krvni paraziti)

- Otopiti 1 pufernu tabletu u 1 litri destilirane vode uz miješanje. Nakon otapanja filtrirati.

Napomena: U postupku bojenja moguće je koristiti pufernu otopinu pH vrijednosti 6,8, 7,2 ili kombinaciju pufernih otopina pH 6,8 i 7,2. Rezultati postupka bojenja mogu se razlikovati u pomaku prema crvenom ili plavom spektru boje.

Radna otopina Leishman za vertikalno bojenje

- Pomiješati 30 mL Leishman otopine s 150 mL destilirane/demineralizirane vode i 20 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2. Ostaviti da odstoji 10 minuta. Filtrirati prije upotrebe.

Radna otopina Leishman za bojenje u automatskom bojaču

- Pomiješati 50 mL Leishman otopine s 220 mL destilirane/demineralizirane vode i 30 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2. Ostaviti da odstoji 10 minuta. Filtrirati prije upotrebe.

A1) Postupak horizontalnog bojenja razmaza (na stalku za bojenje)

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Postaviti preparat u horizontalni položaj te ga prekriti s 1 mL nerazrijeđene Leishman otopine	1 min
3.	Dodati 2 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2, lagano promiješati i pustiti da djeluje	5 min
4.	Isprati pufernom otopinom pH 6,8 ili pH 7,2 kroz dvije izmjene	2 izmjene od 1 min
5.	Osušiti preparat na zraku	

A2) Postupak vertikalnog bojenja razmaza (u posudici za bojenje)

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Uroniti preparat u nerazrijeđenu Leishman otopinu	3 min
3.	Uroniti preparat u Radnu otopinu Leishman za vertikalno bojenje	6 min
4.	Isprati u pufernoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2 kroz dvije izmjene	2 izmjene od 1 min
5.	Osušiti preparat na zraku	

A3) Postupak bojenja krvnog razmaza u automatskom bojaču

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Uroniti preparat u nerazrijeđenu Leishman otopinu	3 min
3.	Uroniti preparat u Radnu otopinu Leishman za bojenje u automatskom bojaču	6 min
4.	Isprati u pufernoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2	1 min
5.	Isprati u vodovodnoj vodi	2 min
6.	Osušiti preparat na zraku	

	Rezultat (pH 6,8)	Rezultat (pH 7,2)
Jezgra	Crveno-purpurna boja	Ljubičasta boja
Citoplazma limfocita	Plava boja	Svijetlo plava boja
Citoplazma monocita	Sivo-plava boja	Sivo-plava boja
Neutrofilne granule	Svijetlo purpurna boja	Svijetlo crveno-ljubičasta do ružičasta boja
Eozinofilne granule	Tamno crvena boja	Crveno-ružičasta do smeđe-crvena boja
Bazofilne granule	Tamno purpurna boja	Tamno purpurna boja
Trombociti	Purpurna boja	Crvenkasto-ljubičasta boja
Eritrociti	Crvenkasta boja	Crvenkasto-siva boja
Krvni paraziti	/	Jezgre crveno-ljubičaste boje

Napomena

Vremenski periodi postupka bojenja 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 bojenja ovisi o osobnim zahtjevima i prioritetima.

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno pratiti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojenja 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 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 i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Leishman otopinu 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. Garcia, L. S. (2001): *Diagnostic Medical Parasitology*, 4th ed., Washington, D.C., ASM Press.
4. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, *Zentralb f Bakt*; 89, str. 99-106.
5. Kiernan, J.A. (2008): *Histological and histochemical methods: Theory and Practice*, 4th ed., Bloxham, Scion Publishing Ltd.

LE-OT-X, V10, 21.05.2019., IŠP/VR

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



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

