

KÄYTTÖTARKOITUS JA SUUNNITELTU KÄYTTÄJÄ

Reastain Quick-Diff Kit on reagenssipakkaus, joka on tarkoitettu hematologisten ja sytologisten näytteiden erittelevään värjäykseen. Kitti sisältää kolme värjäyksessä tarvittavaa käyttövalmista liuosta. Tuote on tarkoitettu koulutetulle laboratoriohenkilöstölle in vitro -diagnostiseen käyttöön.

JOHDANTO

Reastain Quick-Diff-värjäyksen avulla saadaan tietoa veri- ja luuydinnäytteiden solutyypeistä, solumäärästä, solujen osuuksista, sekä yksittäisten solujen morfologiasta ja kypsyydestä. Värjäystä käytetään apuna sekä useiden hematologisten sairauksien diagnostiikassa että hoidon seurannassa.

PERIAATE

Reastain Quick-Diff -värjäys perustuu solurakenteiden ja värimolekyylien välisiin vuorovaikutuksiin. Sivelyvalmisteiden värjäys kestää noin kolme minuuttia.

Reastain Quick-Diff Fix sisältää metanolia, joka säilyttää solujen morfologian ja kiinnittää solut objektilasille. Reastain Quick-Diff Fix sisältää myös metyleenisinistä.

Reastain Quick-Diff Red sisältää happaman eosini Y-väriaineen, joka sitoutuu eosinofiileihin ja biologisten makromolekyylien emäksisiin rakenteisiin värjäten solujen emäksiset osat punaisen sävyillä.

Reastain Quick-Diff Blue sisältää atsuuri II -väriä, joka on atsuuri B:n ja metyleenisinisen sekoitus. Atsuuri B on emäksinen väriaine ja se sitoutuu happamiin rakenteisiin, kuten basofiileihin sekä solun tumien nukleinihappojen ja proteiinien happamiin ryhmiin. Atsuuri B värjää happamat rakenteet sinisen sävyillä. Värjäyksessä havaittava purppura väri on peräisin atsuuri B:n ja eosini Y:n välisestä vuorovaikutuksesta solurakenteissa.

Värjäystulos on riippuvainen pH:sta. Emäksinen pH lisää näytteiden sinistä sävyä ja hapan pH punertavaa sävyä.

KITIN KOMPONENTIT

Reagenssi	Pakkauskoko ja tuotekoodi	Sisältö	
Reastain Quick-Diff Blue	500 ml (172035)	Atsuuri II Glyseroli Natriumatsidi	0,09 % 5 % <0,1 %
Reastain Quick-Diff Red	500 ml (172034)	Eosini Y Natriumatsidi	0,12 % <0,1 %
Reastain Quick-Diff Fix	500 ml (172033)	Metanoli Metyleenisini	100 % <0,01 %

Reastain Quick-Diff kitin Basic UDI-DI koodi on 6430074451021649U.

MUUT TARVITTAVAT MATERIAALIT, JOITA EI OLE TOIMITTU

Objekti- ja vetolasit
Puskuroidun veden käyttö on vahvasti suositeltavaa objektilasien huuhteluun. Fosfaattipuskuri 67,0 mmol/l pH 6,8 (Reagena; tuotenumerot 170105 [500 ml] ja 110105 [10 L]) suositellaan käytettäväksi puskuroidun veden valmistamiseen.

SÄILYTYS- JA KÄSITTELYOLOSUHTEET

Säilytä Reastain Quick-Diff Kitin komponentit valolta suojattuna 2...25 °C:ssa. Vältä värjäysliuosten jäätymistä. Älä käytä liuoksia etikettiin merkityn viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

Mikäli Reastain Quick-Diff Blue tai Red liuokset ovat jäätyneet

tai niitä on säilytetty alle 0 °C:ssa, anna niiden lämmetä huoneenlämpöiseksi ja sekoita ne huolellisesti sakan liuottamiseksi.

KÄYTÖN AIKAINEN STABIILISUUS

Vaihda värjäyskammioiden värjäysliuos säännöllisesti värjäystiheydestä riippuen optimaalisen värjäystuloksen varmistamiseksi. Peitä värjäysliuosta sisältävät värjäyskammiot, kun niitä ei käytetä. Älä sekoita keskenään käytettyjä ja käyttämättömiä värjäysliuoksia.

VAROITUKSET, VAROTOIMET JA KÄYTTÖRAJOITUKSET

Näytteet voivat sisältää taudinaiheuttajia. Suojaudu infektiolta työpaikkasi ohjeiden mukaisesti.

Reastain Quick-Diff Fix sisältää metanolia, joka on myrkyllistä nieltynä, joutuessaan iholle tai hengitettynä. Pehdy käyttöturvallisuustiedotteeseen. Huolehdi riittävästä ilmanvaihdosta.

Käytä henkilösuojaimia Reastain Quick-Diff Fixiä käsitellessäsi: hengityssuojain, suojakäsineet, kasvojen suojain sekä suojavaatetus.

Älä käytä tuotetta etikettiin merkityn viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen. Vanhentuneet liuokset voivat aiheuttaa haalean värjäystuloksen.

Säilytä värjäysliuokset valolta suojattuna. Kirkkaalle valolle altistuneet värjäysliuokset voivat aiheuttaa liian sinisen värjäystuloksen.

Veren sivelyvalmisteen epätasainen jakautuminen objektilasilla voi vääristää todellista solumäärää.

Sulje Reastain Quick-Diff Fix pullo huolellisesti käytön jälkeen metanolin haihtumisen välttämiseksi ja estääksesi ilmankosteuden kontaminoivaa vaikutusta metanoliin. Fiksatiivin sisältämä vesi voi aiheuttaa muutoksia sivelyvalmisteeseen.

Epäonnistunut näytteen kiinnitys voi aiheuttaa ns. burr-solujen muodostumista. Riittämätön kiinnitys aiheuttaa solujen hajoamista ja johtaa värjäyksen epäonnistumiseen.

Älä pyyhi sivelynäytteen pintaa, koska solut voivat irrota tai tuhoutua.

Suojaa Reastain Quick-Diff Red ja Blue värjäysliuoksia jäätymiseltä sakkautumisen välttämiseksi.

Käytä tuoreita värjäysliuoksia. Vaihda värjäyskammioiden liuokset riittävän usein varmistaaksesi optimaalisen värjäystuloksen. Saman värjäysliuoksen käyttäminen liian monelle objektilasille aiheuttaa haalean tai liian sinisen värjäystuloksen. Älä sekoita tuoretta ja käytettyä värjäysliuosta keskenään.

Jos värjäyskammiossa olevassa Reastain Quick-Diff Blue värjäysliuoksessa on pinnalla sakkaa, vaihda liuos välittömästi tuoreeseen liuokseen. Sakka voi häiritä solujen tunnistusta värjäystulosta tarkastellessa.

Älä anna näytteen kuivua värjäysvaiheiden aikana.

Pese objektilasit värjäyksen jälkeen huolellisesti välttääksesi värjäysartefaktoja.

Muutokset värjäyksen suorittamisessa voivat vaikuttaa lopullisen värjäystulokseen ja vaativat näin ollen menetelmän validoinnin.

Kaikista tuotteeseen liittyvistä vakavista vaaratilanteista on ilmoitettava valmistajalle (Reagena) ja sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, johon käyttäjä ja/tai potilas on sijoittautunut.

NÄYTTEET

Näytteenä voidaan käyttää hematologiaa ja sytologiaa näytteitä, kuten laskimo- ja sormenpäätettä, sekä luuydinaspiraattia.

Veren sivelyvalmiste voidaan tehdä tuoreesta verestä (jossa ei ole antikoagulanttia) tai EDTA-kokoverestä. Hepariniiniputkeen otettua verta ei tule käyttää. Solujen morfologian

säilyttämiseksi, sivelynäyte tulee valmistaa mahdollisimman pian näytteenoton jälkeen, viimeistään kolmen tunnin kuluessa.

Jos sivelynäytettä ei voida värjätä heti, kuivataan näyte huolellisesti ja kiinnitetään se mielellään tunnin kuluessa Reastain Quick-Diff Fix -liuoksella.

Ihopistosnäytteen virheellinen ottaminen heikentää näytteen laatua. Ihopistoskohdan ympäristön puristelu voi johtaa kudosten sekoittumisen näytteeseen ja näin ollen näytteen laimenemisen. Ihon puhdistukseen käytettävä alkoholi voi aiheuttaa hemolyyysiä, joka vääristää tulosta.

Luuytimen siveilyvalmiste voidaan tehdä tuoreesta tai EDTA-putkeen otetusta luuydinnäytteestä. Luuytimen siveilyvalmiste tulee levittää viipymättä objektilasille artefaktujen välttämiseksi. Siveilyvalmiste kuivataan huolellisesti ennen kiinnittämistä.

REAGENSSIEN VALMISTELU

Reastain Quick-Diff Fix, Red ja Blue ovat käyttövalmiita liuoksia.

VÄRJÄYKSEN SUORITTAMINEN

1. Kaada liuokset erillisiin värjäysaltaisiin.
2. Kasta ilmakeiuvatut preparaattit Reastain Quick-Diff Fix liuoksessa (1 s) 5–10 kertaa.
3. Kasta preparaattit Reastain Quick-Diff Red liuoksessa (1 s) 3–15 kertaa.
4. Kasta preparaattit Reastain Quick-Diff Blue liuoksessa (1 s) 3–15 kertaa.
5. Huuhtelee preparaattit puskuroidulla vedellä ja anna kuivua ilmassa.
6. Suojataan preparaatti peitinlasilla, mikäli sitä on tarvetta säilyttää pitempiä aikoja.

Eosinofiilien värjäystä voidaan tehostaa kastamalla preparaattit useammin Reastain Quick-Diff Red liuoksessa kuin Reastain Quick-Diff Blue liuoksessa.

Esimerkki värjäysprotokollasta:

1. Reastain Quick-Diff Fix liuoksessa 10 kertaa 1 sekunti.
2. Reastain Quick-Diff Red liuoksessa 6 kertaa 1 sekunti.
3. Reastain Quick-Diff Blue liuoksessa 10 kertaa 1 sekunti.

TULOSTEN TULKINTA

Tuma	Kromatiini: purppura Nukleoli: sininen
Lymfosyyttien sytoplasma	Sininen
Monosyyttien sytoplasma	Siniharmaa
Granulosyytit	
- basofiilit	Purppuran musta
- eosinofiilit	Vaaleanoranssi
- neutrofiilit	Purppura
Punasolut	Punertava

TESTIN SUORITUSKYKY

Oikein suoritettuna siveilyvalmisteen solutyypit ovat värjäyksen jälkeen ammattihenkilön tunnistettavissa.

HÄIRITSEVÄT TEKIJÄT

Hepariini-putkeen otettuja verinäytteitä ei suositella käytettäväksi, koska hepariiniveri aiheuttaa sinistä taustaa.

JÄTTEIDEN KÄSITTELY

Reastain Quick-Diff Fix -jäte on hävitettävä vaarallisena jätteenä paikallisten ohjeiden mukaisesti.

KIRJALLISUUS

Bezrukov AV. 2017. Romanowsky staining, the Romanowsky effect and thoughts on the question of scientific priority. *Biotech Histochem.* 2017;92(1):29-35.

Horobin RW. 2011. How Romanowsky stains work and why they remain valuable - Including a proposed universal Romanowsky staining mechanism and a rational troubleshooting scheme. *Biotechnol&Histochemistry* 86(1): 36-51.

Bain BJ et al. 2012. *Dacie and Lewis Practical Haematology, 11th Edition, Churchill Livingstone, Lontoo, 2012*

Lee S-H et al. 2008. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 30, 349–364.














Houwen, B. 2002. Blood film preparation and staining procedures. *Clin. Lab. Med.*, 22(1):1-14.

Bain, BJ. 2001. Bone marrow aspiration. *J Clin Pathol.* 54(9):657-63.

VALMISTAJA

Oy Reagena Ltd, Takojantie 18, 70900 Toivala, FINLAND
Tel. +358 10 5045 200, www.reagena.com,
info@reagena.com

SYMBOLIT

	CE-merkki		In vitro -diagnostiseen käyttöön
	Eräkoodi		Luettelonumero/ tuotekoodi
	Valmistaja		Säilytys- lämpötila
	Säilytä valolta suojattuna		Viimeinen käyttöpäivä
	Syttyvä		Katso käyttöohjeet
	Vakava terveysvaara		Välitön myrkyllisyys
	Valmistettu Suomessa		