

Kit RAL 555

Kat. č.: 361550-0000

Fixace a diferenciální barvení buněčných struktur

Pro použití v laboratoři vyškoleným personálem. In Vitro diagnostické zařízení.

1 – Použití

Kit RAL 555 je určen pro fixaci a diferenciální barvení biologických vzorků a buněčných struktur před mikroskopováním. Výrobce doporučuje používat soupravu s ostatními výrobky RAL.

2 – Princip stanovení

Kit RAL 55 je rychle působící varianta May-Grünwald Giemsa barvení.

Ve vodném, pufrovaném médiu tato souprava umožňuje:

- Diferenciální barvení krevních nátěrů – počet krevních buněk, morfologie leukocytů, parazitologie – a medulární stěry – myelogramy.
- Detekce tkáňových a krevních parazitů v medicínské a veterinární mykologii.
- Cytologické a strukturální studie fixovaných a parafinem zalitých tkáňových řezů a kapalin a punkcí.
- Cytologické studie moči, míšního moku a dalších tekutin.

Analýza stěrů je identická s analýzou prováděnou standardním barvením MGG.

3 – Reagencie

| FIX-RAL 555 | | EOSIN-RAL 555 | |
|--------------|------------|---------------|------------|
| 362870-1000 | 1 x 1 l | 361640-1000 | 1 x 1 l |
| 362870-0100 | 1 x 100 ml | 361640-0100 | 1 x 100 ml |
| BLUE-RAL 555 | | | |
| 361650-1000 | 1 x 1 l | | |
| 361650-0100 | 1 x 100 ml | | |

V balení kitu jsou lahvičky po 100 ml. Separátně jsou k dispozici lahve po 1l.

Konkrétní údaje o šarži naleznete v certifikátu analýzy pro danou šarži.

V soupravě nedodáno:

Mikroskopická sklíčka, čistý ethanol, ethanol 90° a isopropanol, viz protokoly pro jednotlivá barvení.

4 – Skladování a manipulace

Výše uvedené reagencie skladujte při pokojové teplotě (15 – 25°C), mimo přímé sluneční světlo a zdroje tepla.

Datum expirace před a po otevření jsou uvedeny na obalu.



Veškerá manipulace se vzorky a reagensy musí být prováděna vyškoleným personálem dle relevantních norem. Při manipulaci používejte správná ochranná zařízení pro jednotlivce i pro pracoviště dle příslušných regulací.

Personál musí být obeznámen s klasifikací nebezpečí materiálu. Viz níže, nebo bezpečnostní list pro uvedené reagensy.

Měření musí být provedeno autorizovaným personálem dle platných laboratorních řádů.

5 – Aktivní složky

- 362870: Methanol [CAS 67-56-1] > 80%
- 361640: Eosin Y [CAS 17372-87-1] < 0,1%
- 361650: Methylenová modř [CAS 61-73-4] < 1%

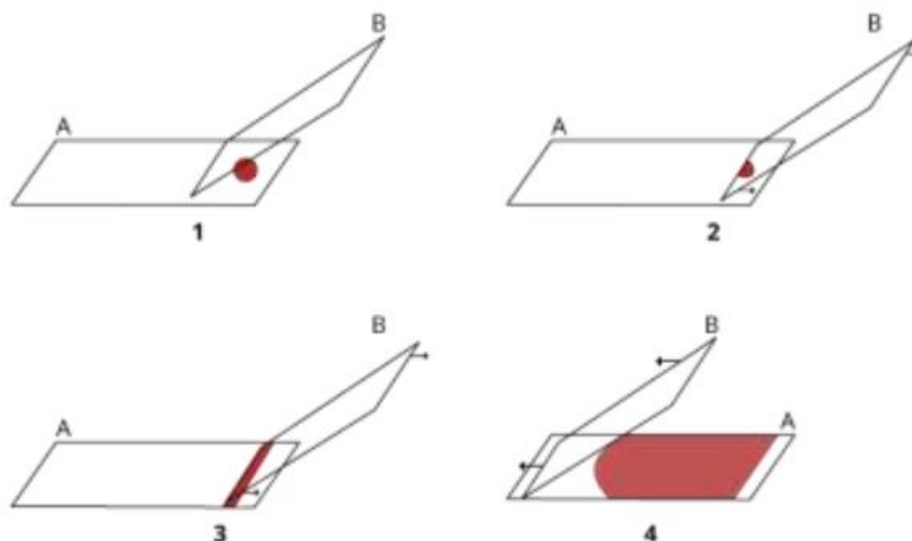
6 – Příprava vzorku

Manipulujte se vzorky dle laboratorních norem.

Zkumavku se vzorkem promíchejte pomalou inverzí. Na zkumavku nasadte kapátko a na sklíčko dejte kapku krve. Druhým sklíčkem, v úhlu 45°, nejprve nechte kapku kapilárně rozšířit na šířku sklíčka, pak sklíčkem protáhněte krev podél dolního sklíčka.

Dobrý nátěr nesahá na konec sklíčka, je postupně tenčí a na konci roztřepený.

Před barvením nechte nátěr uschnout.



Pozn.: Pokud nemáte k dispozici kapátko na zkumavky, zkumavku se vzorkem otevřete a použijte pipetu.

Manuální nátěr kostní dřeně

Pipetou dejte malou část vzorku na sklíčko. Odsajte přebytečnou krev a zbylé hromádky překryjte druhým sklíčkem. Posunováním horního sklíčka se ztenčí a rozetře vrstva buněk. Po rozetření vzorku odstraňte vrchní sklíčko a nechte vzorek uschnout.

Tlustý krevní nátěr

Odeberte 2 μ l krve ze zkumavky s EDTA a umístěte je do středu sklíčka. Rozprostřete kapu do kruhu a nechte schnout na vzduchu 20 minut, v inkubátoru 5 minut, nebo 2 minuty pod fénem. Pokryjte kapku velmi malým množstvím vody, aby zhemolyzovala. Po rozpuštění hemoglobinu opatrně odlijte červenou vodu. Kapku jemně opláchněte vodou – bude pak bělavá.

Bakteriální nátěr

Vytvořte tenkou vrstvu bakterií ze vzorku a nechte sklíčko vyschnout při pokojové teplotě. Pak lze nátěr zafixovat zdrojem tepla nebo chemicky (methanol, ethanol, kyselina octová, formalin...).

Teplem fixujte pouze zcela suchý nátěr. Mohlo by dojít k tvorbě aerosolů a diseminaci bakterií.

Fixační metody se mohou kombinovat.

Histologické řezy

Před barvením odstraňte fixační parafin a hydratujte histologické řezy vhodným činidlem.

Spermocytogramy

Aby nedošlo k oddělení nátěru připravte ho, aby nebyl příliš hustý ani jemný, a nechte ho zaschnout – několik hodin na vzduchu nebo na plotýnce.

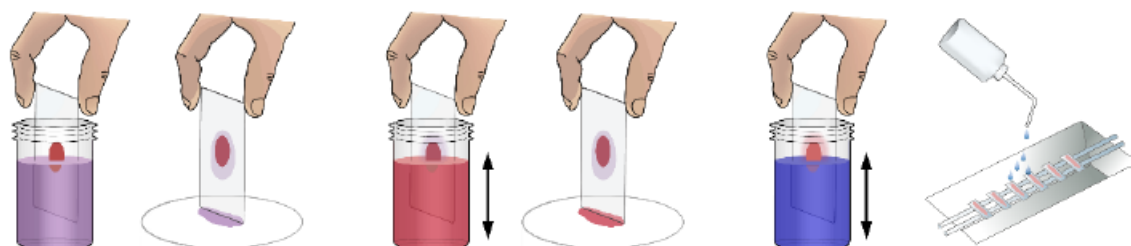
7 – Příprava reagensí a nástrojů

Není potřeba žádná příprava; roztoky jsou připraveny k použití. Nádoby reagensí se mohou použít pro vlastní barvení.

Pro oplachování použijte vodu – destilovanou, demineralizovanou nebo kohoutkovou.

8 – Protokoly

Níže uvedené protokoly sestávají z postupných máčení sklíček v nádobách s různými barvicími roztoky. Časy zohledňují pouze dobu ponoření sklíček v reagensii.



Hematologické vzorky – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:05 | Ponořit 5krát na 1 sekundu |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Kostní dřevě – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 3 minuty

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 01:00 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 01:00 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 01:00 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Spermocytogramy – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 1 minuta 20 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 01:00 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:10 | Ponořit 10krát na 1 sekundu |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:10 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Histologické vzorky – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:05 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Cytologické vzorky, moči, cytobakteriologie – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:05 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Mozkomíšni mok pro cytobakteriologii – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 1 minuta 4 sekundy

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 01:00 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:02 | Ponořit 2krát na 1 sekundu |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:02 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Tkáňové vzorky – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 23 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|---------------------|---------------|-------------|--|
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | - |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:07 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Krátce |
| Rozlišení | 90° Etanol | 00:01* | Protřepejte v lázni, dokud nedosáhnete požadovaného zbarvení |
| Zastavení rozlišení | Isopropanol | 00:10 | - |
| Pokrytí | Krycí médium | ≥03:00 | - |

*Lze prodloužit na dvě sekundy.

Odstraňte vosk a hydratujte v příslušných reagentech před barvením. Neponořujte sklíčko do FIX-RAL 555.

Cytologie punkcí (prsa, hluboké orgány), efuzní kapaliny sérových membrán – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:05 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Plazmodia v tlustém krevním nátěru – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 7 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:01 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:03 | Ponořit 3krát na 1 sekundu |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:03 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Velmi jemně |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Krevní film s plazmodii – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 7 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 01:00 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:02 | Ponořit 2krát na 1 sekundu |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:02 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Velmi jemně |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Barvení tkáňových prvoků, cryptosporidium, Pneumocystis carinii, hub hluboké mykózy – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 2 minuty 5 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 01:00 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:25 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:40 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Veterinární parazitologie – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:05 | Ponořit 5krát na 1 sekundu |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:05 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Výzkum Trichomonas – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 2 minuty 15 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:15 | - |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 01:00 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 01:00 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

Výzkum Mikrofilárií – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 30 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|------------|---------------|-------------|-----------------------------|
| Fixace | FIX-RAL 555 | 00:10 | Ponořit 10krát na 1 sekundu |
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:10 | |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:10* | |
| Opláchnutí | Voda | - | Rychle |
| Schnutí | - | ≥03:00 | - |

*Můžete prodloužit barvení BLUE-RAL 555 na 20 sekund, kdy ponoříte 20krát sklíčko do reagencie na 1 sekundu.

Výzkum Helicobakter pylori – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 22 sekund

| Kroky | Reagencie | Čas [min:s] | Instrukce |
|---------------------|---------------|-------------|-----------------------------|
| Barvení | EOSIN-RAL 555 | 00:07 | - |
| Barvení | BLUE-RAL 555 | 00:05 | |
| Opláchnutí | Voda | - | Osušte na filtračním papíře |
| Rozlišení | 90° Etanol | 00:10 | Ponořit a otřepat |
| Zastavení rozlišení | 100% Ethanol | - | - |
| Dehydratace | Krycí médium | ≥03:00 | 2 lázně |

Odstraňte vosk a hydratujte v příslušných reagentech před barvením. Neponořujte sklíčko do FIX-RAL 555.

9 – Předpokládané výsledky

| Krevní stěr a stěr kostní dřeně | | | |
|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|-----------------------|
| Jádra/chromatin | +/- tmavě purpurová | Cytoplazma leukocytů bez RNA | světle narůžovělá |
| Eozinofilní zrna granulocytů | Oranžovohnědá | Bazofilní zrna granulocytů | tmavě purpurovo-modrá |
| Neutrofilní zrna granulocytů | +/- tmavě purpurová | Lymfocyty cytoplazmy bez RNA | jasně modrá |
| Cytoplazma lymfocytů bez RNA | světle modrá | Azurofilní zrna lymfocytů | červená |
| Cytoplazma monocytů | Šedomodrá | Erytrocyty | Světle modrá |
| Chromomer destiček | Purpurově červená | Hyalomer destiček | Modravá |
| Jádro krevních parazitů | Červená | Cytoplazma krevních parazitů | Modrá |
| Spermocytogramy | | | |
| Hlavička – jádro | Purpurová | Hlavička – akrozom | Růžová |
| Střední část | Purpurově růžová | Bičík | Světle růžová |

Hodnocení v procentech:

- Abnormality hlavičky, střední části a bičíku
- Aglutináty
- Leukocyty, erytrocyty a buňky

| Parazitologie a mykologie | | | |
|---|-------------------|---|---------------------|
| Cytoplazmy hostitelských, houbových a parazitických eukaryotických buněk | | Modrá až tmavě modrá, dle hojnosti ribozomů | |
| Jádra | Purpurově červená | | |
| Helicobakter pylori na histologických řezech | | | |
| Helicobakter pylori | Tměvě modrá | Jádra | modrá |
| Cytoplazma | Růžová až červená | Kolagen | Velmi světle růžová |
| Histocytologie | | | |
| Jádra | Červenofialová | Acidofilní cytoplazma | Růžová |
| Bazofilní cytoplazma | Modrá | Kolagen | Světle růžová |
| Erytrocyty | běžová | | |

Pokud se výsledky liší od předpokladu, kontaktujte prosím výrobce nebo jeho zástupce.

10 - Charakteristika

Analytická validita reagensů je zaručena CE certifikací. Pro optimální výsledky používejte čisté a suché laboratorní příslušenství. Laboratoř je zodpovědná za kontaktování výrobce nebo jeho zástupce při jakékoliv závažné příhodě.

11 – Kontrola kvality

Uživatelé jsou zodpovědní za provedení kontroly kvality, její procedury a návaznosti s příslušnými laboratorními řády.

Hematologické vzorky:

Výrobce (RAL Diagnostics) doporučuje barvit čerstvě natřené vzorky s normálním počtem bílých krvinek a bez známých patologií při každé obnově reagensů a pro každý první barvicí cyklus dne. Tyto nátěry by měly být porovnány s kontrolními sklíčky, abyste zajistili konzistentní kvalitu výsledků.

Bakteriální vzorky:

Výrobce (RAL Diagnostics) doporučuje použít známý bakteriální vzorek jako kontrolu kvality při každé obnově reagensů a pro každý první barvicí cyklus dne. Tyto nátěry by měly být porovnány s kontrolními sklíčky, abyste zajistili konzistentní kvalitu výsledků.

Stabilita barvy:

Kvalita a reprodukovatelnost barvení závisí na správném použití produktů. Barvení dle výše uvedených doporučení je stabilní po dobu několik dní.

Pokud je potřeba skladovat nátěry několik měsíců až let, výrobce doporučuje zakrýt je krycím sklíčkem se správnou tekutinou a skladovat v prachotěsném obalu.

12 – Bezpečnostní údaje

Se všemi vzorky biologického původu by se mělo manipulovat jako s potenciálně infekčními. Likvidaci provádějte dle místních platných regulací.

Chemický a biologický odpad musí být shromážděn a likvidován registrovanými společnostmi. Bezpečnostní údaje jednotlivých reagensů naleznete v jejich příslušných bezpečnostních listech.

362870

FIX-RAL 555



| | | | |
|-------------|---------------------------------|---------------------|---|
| H225 | Vysoce hořlavá kapalina a páry. | H301+311+331 | Toxický při požití, při styku s kůží a při vdechování. |
| H370 | Způsobuje poškození orgánů. | P210 | Chraňte před teplem, horkými povrchy, jiskrami, otevřeným ohněm a jinými zdroji vzplanutí. Nekuřte. |

| | | | |
|-----------------|---|-----------------|---|
| P261 | Zamezte vdechování výparů, mlhy, plynu. | P264 | Po manipulaci si důkladně umyjte ruce. |
| P280 | Používejte ochranné rukavice, oděv, brýle a ochranu obličeje. | P301+310 | Při Požití: Okamžitě volejte lékaře nebo toxikologické středisko. |
| P308+311 | Při expozici nebo podezření na ni: Volejte lékaře nebo toxikologické středisko. | | |

Obsahuje CH3OH



361640 EOSIN-RAL 555

| | | | |
|-----------------|--|-----------------|---|
| H317 | Může vyvolat alergickou kožní reakci. | H412 | Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými následky. |
| P261 | Zamezte vdechování výparů, mlhy, plynu. | P280 | Používejte ochranné rukavice, oděv, brýle a ochranu obličeje. |
| P333+313 | Při podráždění pokožky nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc. | P362+364 | Kontaminovaný oděv svlékněte a vyperte před dalším použitím. |

Obsahuje: Směs chlor-2-metyl-3(2H)-isothiazol / 2-metyl-3(2H)-isothiazol

361650 BLUE-RAL 555

Nepodléhá označovacím povinnostem.

13 – Reference

BROULAND J.P., PRAT J.J., CASTAGNET P., Méthode rapide de coloration pour la mise en évidence de *Helicobacter pylori* (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques - Hôpital Lariboisière), Assises d'Anatomie Pathologique, 23-24 mars 1995, p.211.

BOURÉE P., Aide-mémoire de parasitologie et de pathologie tropicale, Médecine-Sciences, Flammarion, 2ème éd., 1994, p. 294-295.

DATRY A., LECSO G., RICHARD-LENOBLE D. et KOMBILA M., Coloration rapide des plasmodies et des microfilaires par les colorants solubles dans l'eau, Med. Trop., vol 42, n°6, nov-déc 1982, p.673-675.

DUBOST R., Technique du spermocytogramme, Pharm. Biol., vol. 13, 1979, p. 133-134.

JASWANT SINGH, BHATTACHARJI L. M., Rapid staining of malarial parasites by a water-soluble stain, The Ind. Med. Gaz., n°3, mars 1944, p. 102-104.

LIENARD G., Techniques d'investigation du sperme, spermogramme et spermocytogramme (service du Professeur Salesse, Hôpital Cochin), UNATEB, « Thème et Débat » du 11 mars 1980.

PRAT J.J., BROULAND J-Ph., MIKOL J., Une alternative à la coloration de Giemsa sur coupe histologique (Service Anatomie et Cytologie Pathologiques - Hôpital Lariboisière), Assises d'Anatomie Pathologiques, 23-24 mars 1955, p. 44.

SOCIETE FRANCAISE D'HEMATOLOGIE (SFH), Guides des bonnes pratiques des ponctions médullaires,
Juin 2003, VI.2

THEML H., ATLAS de poche d'Hématologie, Médecine-Sciences Flammarion, p. 19-25, 2000

Revize: 10.2023