

Kit RAL StainBox BBM

Art.-Nr. 360400-0000

Fixierung und differenzielle Färbung von Zellstrukturen



IFU002A-RAL

Ausschließlich zum professionellen Gebrauch bestimmt.
Bitte lesen Sie diese Informationen vor Benutzung des Geräts aufmerksam durch.

Inhalt

Einsatzzweck.....	1
Prinzip.....	1
Kit-Beschreibung.....	2
Lagerung	2
Aktive Bestandteile	2
Gefahrenklassifizierung und Sicherheitsinformationen.....	3
Qualifikation der Mitarbeiter.....	3
Spezifische erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Ausrüstung und Reagenzien.....	3
Betriebsverfahren	4
Erwartete Ergebnisse.....	8
Leistung.....	8
Benutzer-Qualitätskontrolle	8
Sonstige Produkte.....	9
Empfehlungen, Hinweise und Fehlerbehebung	9
Tabelle der Symbole und Abkürzungen.....	10
Literatur.....	10
Änderungsverfolgung.....	10

Einsatzzweck

Kit RAL StainBox BBM ist in Kombination mit einem RAL StainBox Färbeautomaten für die Fixierung und differenzielle Färbung von Zellstrukturen vor der mikroskopischen Untersuchung bestimmt.

RAL Diagnostics empfiehlt in bestimmten Fällen die Verwendung der zugehörigen Produkte von RAL Diagnostics und kann nicht garantieren, dass im Fall einer Kombination mit Produkten anderer Marken die erwarteten Ergebnisse erzielt werden.

Prinzip

Die panoptische Färbung BBM ermöglicht die Zählung von Blut- und Knochenmarkzellen durch fünf nacheinander eingesetzte Reagenzien: R1, R2, R3, R4 und R5.

Das mit Ethanol angesetzte R1 ist eine Mischung aus neutralen Farbstoffen. Es ermöglicht die Fixierung des Ausstrichs und bereitet insbesondere die Färbung der wasserlöslichen Bestandteile wie der basophilen Granula vor.

Diese Farbstoffe sind im alkoholischen Milieu inaktiv und reagieren erst bei Freisetzung in R2- und R3-Lösung selektiv. Diese Freisetzung führt zur Ausfällung neutraler Farbstoffe, durch die Erythrozyten, Zytoplasma neutrophiler Granulozyten und eosinophile Granula eingefärbt werden. R4 ist eine blaue, wässrige Lösung, die das Zytoplasma von Monozyten und Lymphozyten einfärbt. R4 begünstigt auch die Metachromasie azurophiler Granula und färbt diese rot. R5 schließlich entfernt überschüssigen Farbstoff und trägt mithilfe spezieller Spülsbstanzen zur differenzierten Darstellung der Zellbestandteile bei.

Die aufeinanderfolgende Verwendung von R1, R2, R3, R4 und R5 führt zur violetten Färbung (typische Giemsa-Romanowsky-Färbung), die vor allem bei Chromatin, Thrombozyten, und neutrophilen Granula sichtbar ist.

Kit-Beschreibung

R 1

Klare dunkelblaue Lösung
Art.-Nr. 313595-0250

1 X 230 mL

R 2

Klare farblose Lösung
Art.-Nr. 3135752A0250

1 X 230 mL

R 3

Klare farblose Lösung
Art.-Nr. 3135753A0250

1 X 230 mL

R 4

Klare dunkelblaue Lösung
Art.-Nr. 313565-0250

1 X 230 mL

R 5

Klare farblose Lösung
Art.-Nr. 313605-0250

4 X 230 mL

Angaben zu einer bestimmten Charge finden Sie im Analysezertifikat für diese Charge, das auf my.ral-diagnostics.fr verfügbar ist.

Lagerung

Lagerungstemperatur: 15–25 °C lichtgeschützt.

Haltbarkeit vor dem Öffnen: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett.

Haltbarkeit nach dem Öffnen: 4 Wochen nach dem Öffnen oder nach 300 Objektträgern

Nach dem Öffnen hat die Verwendungsdauer Vorrang vor dem Verfallsdatum



Aktive Bestandteile

R1

May-Grünwald: ca. 0,1 %

Methylenazur I blau – CAS - 531-55-5: ca. 0,05 %

R2 und R3

Kaliummonophosphat – CAS 7778-77-0: ca. 0,05 %

Wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat – CAS 7558-79-4: ca. 0,09 %

R4

Methylenblau – CAS - 61-73-4: < 0,25 %

R5

Kaliummonophosphat – CAS 7778-77-0: ca. 0,03 %

Wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat – CAS 7558-79-4: ca. 0,03 %

Gefahrenklassifizierung und Sicherheitsinformationen

R 1

Gefahr: H225 - Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.

P210 - Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen.



R2 and R3

Achtung: H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P280 - Schutzkleidung, Schutzhandschuhe, Augenschutz tragen. P333+P313 - Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.



CONT	5-Chlor-2-Methyl-2H-Isothiazol-3-one/ 2-Methyl-2H-Isothiazol-3-one
-------------	--

R 4

Keine Kennzeichnung erforderlich

R 5

Achtung: H226 - Flüssigkeit und Dampf entzündbar. H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P210 - Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen. P261 - Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P280 - Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz tragen. P333+P313 - Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362+P364 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.



CONT	5-Chlor-2-Methyl-2H-Isothiazol-3-one/ 2-Methyl-2H-Isothiazol-3-one
-------------	--

Das verwendete RFID-Etikett enthält einen passiven, kontaktlosen Speicherchip für kurze Reichweiten (13,56 MHz).

Qualifikation der Mitarbeiter

Alle Proben und Produkte müssen gemäß den in den Labors geltenden nationalen Richtlinien von qualifiziertem und autorisiertem Personal mit einer persönlichen oder kollektiven Schutzausrüstung gehandhabt werden. Das Personal muss zudem die auf der Produktkennzeichnung und im Sicherheitsdatenblatt (verfügbar unter my.ral-diagnostics.fr) angegebene Einstufung der Gefahrstoffe kennen.

Die Probe muss gemäß den im jeweiligen Labor üblichen und von den nationalen Behörden vorgeschriebenen Laborverfahren verarbeitet werden.

Die Diagnose muss von qualifiziertem und befugtem Personal in Übereinstimmung mit den im Laboratorium geltenden Verfahren gestellt werden.

Spezifische erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Ausrüstung und Reagenzien

Mikroskop-Objekträger, absolutes Ethanol und RAL StainBox Art.-Nr. 402000

Je nach Protokoll kann diese Ausrüstung unterschiedlich sein. Bitte vergewissern Sie sich im entsprechenden Protokoll nach (siehe Abschnitt „Betriebsverfahren“), dass die erforderliche Ausrüstung zum Ausführen von Tests vorhanden ist.

Betriebsverfahren

Die für die Probenverarbeitung verwendete Ausrüstung muss der Gebrauchsanweisung des Lieferanten entsprechen.

Vorbereitung der Probe

Manueller Blutausstrich: Den Röhrcheninhalt durch langsames Umschwenken mischen und einen Aufsatz zur Tropfenaufbringung für Ausstriche anbringen. Das Röhrchen invertieren und den Aufsatz leicht auf einen Objektträger drücken, um einen kleinen Blutstropfen aufzubringen (Abb. 1 – Objektträger A in Schritt 1).

Mit einem anderen, um 45° geneigten Objektträger (Abb. 1 – Objektträger B in Schritt 1) das Blut mithilfe der Kapillarkräfte an der kurzen Kante verteilen (Abb. 1 – Schritte 2 und 3) und mit einer schiebenden Bewegung (Abb. 1 – Schritt 4) ausstreichen. Ein qualitativ guter Blutausstrich sollte nicht bis zum Ende des Objektträgers aufgetragen werden und zeichnet sich durch allmähliche Abnahme seiner Dicke und abschließende Ausfransung aus. Den Ausstrich vor der Fixierung bzw. Färbung an der Luft trocknen lassen.

Anmerkung: Falls Sie über keinen Aufsatz zur Tropfenaufbringung für Ausstriche verfügen, das Röhrchen öffnen und zum Aufbringen des Blutstropfens eine Pipette verwenden.

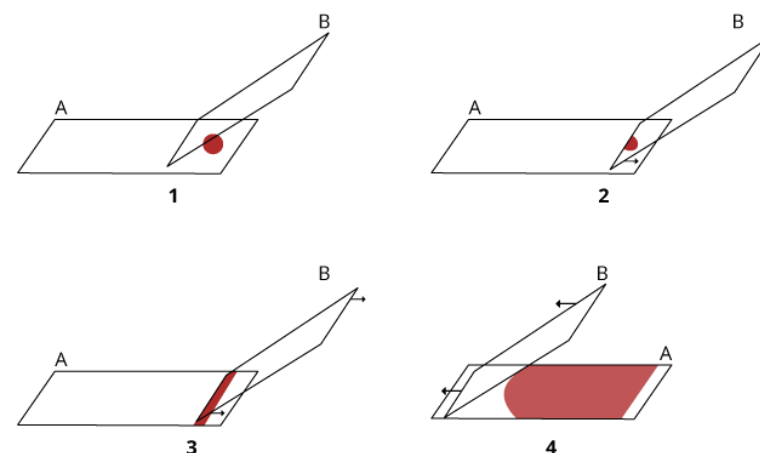



Abbildung 1. Schematische Darstellung eines Blutausstrichs

A und B: Objektträger, 1 – 4: Schritt 1 bis 4

Manueller Knochenmarksausstrich durch Zerdrücken: mit einer Pipette eine kleine Probenmenge auf einen Mikroskop-Objektträger auftragen. Überschüssiges Blut abtupfen, damit nur glatte Klumpen zurückbleiben. Den ersten Objektträger mit einem weiteren Objektträger bedecken. Die Probe zusammendrücken und ausdünnen, indem Sie sie zum Ende des Objektträgers schieben und ziehen. Ein qualitativ guter Blutausstrich sollte nicht bis zum Ende des Objektträgers aufgetragen werden. Den für den Ausstrich verwendeten Objektträger entsorgen. Den Ausstrich vor der Fixierung bzw. Färbung an der Luft trocknen lassen.

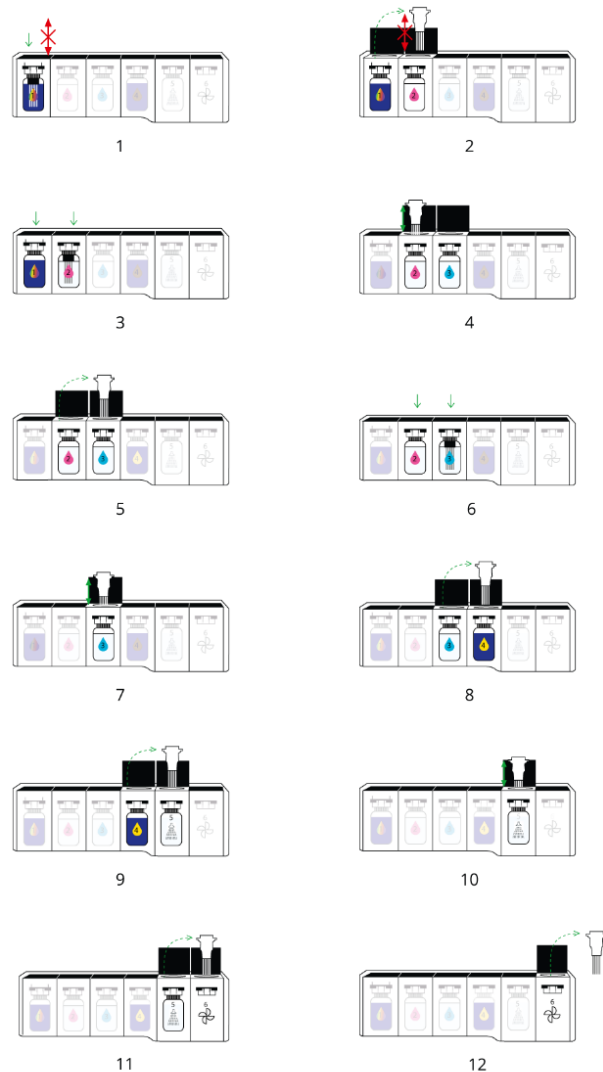
Vorbereitung der Reagenzien und Instrumente

Keine Vorbereitung erforderlich. Die Lösungen sind gebrauchsfertig und die Reagenzbehälter sind für die Färbung von Objektträgern vorgesehen.

Drücken Sie am Hauptbildschirm der StainBox  die entsprechende Taste, um alle Deckel der StainBox zu öffnen. Flaschendeckel und Sicherheitsringe 1 bis 5 entfernen und in die entsprechenden Halterungen einschrauben. Stellen Sie sicher, dass alle Flaschen an der richtigen Position sitzen (Tabelle 1. Flaschenhalterungen und -positionen). Alle Deckel manuell schließen und anschließend den Anweisungen auf dem Bildschirm folgen.

Station	1	2	3	4	5
Bottle	R1	R2	R3	R4	R5
Support					
LED colour	Flickering LED	Pink LED	Blue LED	Yellow LED	White LED

Tabelle 1. Flaschenhalterungen und -positionen



- 1- Objektträgerhalter an der ersten Position einsetzen
- 2- Nach Ablauf des Countdowns öffnen sich Deckel 1 und 2. Objektträgerhalter auf Position 2 versetzen. Nicht schütteln.
- 3- Deckel 1 & 2 schließen.
- 4- Nach Ablauf des Countdowns öffnen sich Deckel 2 und 3. Die Objektträger an Position 2 schütteln (gemäß verwendetem Protokoll).
- 5- Objektträgerhalter auf Position 3 versetzen. Die Objektträger an Position 3 schütteln (gemäß verwendetem Protokoll)
- 6- Deckel 2 & 3 schließen.
- 7- Nach Ablauf des Countdowns öffnen sich Deckel 3 und 4. Die Objektträger an Position 3 schütteln (gemäß verwendetem Protokoll).
- 8- Objektträgerhalter auf Position 4 versetzen. Die Objektträger an Position 4 schütteln (gemäß verwendetem Protokoll) und Deckel 3 und 4 schließen. Nach Ablauf des Countdowns öffnen sich Deckel 4 und 5.
- 9- Objektträgerhalter auf Position 5 versetzen, Deckel 4 schließen.
- 10- Deckel 5 geöffnet lassen und Objektträger gemäß verwendetem Protokoll schütteln.
- 11- Nach Ablauf des Countdowns den Objektträgerhalter auf Position 6 versetzen und Deckel 5 und 6 schließen.
- 12- Nach Abschluss des Vorgangs die gefärbten Objektträger aus Position 6 herausnehmen und den Deckel schließen. Die Objektträger können nun analysiert werden.
- 13- .

Protokolle

Die Schritte des Färbeprozesses im nachfolgenden Protokoll umfassen das aufeinander folgende Tauchen der Objektträger in die einzelnen Färbekammern.

Die von RAL Diagnostics empfohlenen Färbungsparameter sind im RFID-Etikett voreingestellt.

Abbildung 2. Schematische Darstellung der Färbeschritte der RAL StainBox

Protokoll Blutproben – Manuelle Färbebadmethode – Automatisierte Analyse an einem CellaVision® DC-1-System

Bearbeitungszeit: 11 Min. 30

Schritte	Reagenz	Dauer [mm:ss]	Hinweise
Fixieren und vorfärben	R1	06:00	Nein
Färben	R2	01:00	Nach Ablauf des Countdowns 5 bis 10 Mal im Bad schütteln*
Färben	R3	02:00	Zu Beginn und nach Ablauf des Countdowns 5 bis 10 Mal im Bad schütteln*
Färben	R4	00:30	
Spülen	R5	02:00	
Trocknen	Nein	03:00	Nein

* Bei Deckelöffnung mit dem Schütteln beginnen.

Protokoll für Blutproben – Manuelle Färbebadmethode – Manuelle mikroskopische Analyse

Bearbeitungszeit: 09 Min. 45

Schritte	Reagenz	Dauer [mm:ss]	Hinweise
Fixieren und vorfärben	R1	06:00	Nein
Färben	R2	01:00	Nach Ablauf des Countdowns im Bad schütteln
Färben	R3	02:00	
Färben	R4	00:30	
Spülen	R5	00:15	Während des Countdowns kontinuierlich im Bad schütteln
Trocknen	Nein	03:00	Nein

Protokoll für Knochenmarkproben – Manuelle Färbebadmethode – Manuelle mikroskopische Analyse

Bearbeitungszeit: 19 Min. 45

Schritte	Reagenz	Dauer [mm:ss]	Hinweise
Fixieren und vorfärben	R1	15:00	Nein
Färben	R2	03:00	Nach Ablauf des Countdowns 3 bis 5 Mal im Bad schütteln
Färben	R3	Nein	Nicht in die Flasche eintauchen
Färben	R4	01:30	Nach Ablauf des Countdowns 3 bis 5 Mal im Bad schütteln
Spülen	R5	00:15	Während des Countdowns kontinuierlich im Bad schütteln
Trocknen	Nein	03:00	Nein

Hinweis: Bei Auftreten von Brechungs-/Wasserartefakten sind die Objektträger vor der Färbung 2 Minuten in einem Bad mit absolutem Ethanol vorzufixieren. Nach der Vorfixierung direkt mit der Färbung beginnen, ohne die Objektträger vorher zu trocknen.

Erwartete Ergebnisse

Kerne / Chromatin: +/- dichtes Violett
Granulozyten Zytoplasma: hellviolett-pink
Granulozyten eosinophile Granula: orange
Granulozyten basophile Granula: dunkelblau
Granulozyten neutrophile Granula: +/- dunkles Violett
Lymphozyten Zytoplasma mit RNA: klares Blau
Lymphozyten Zytoplasma ohne RNA: hellblau
Lymphozyten azurophile Granula: rot
Monozyten Zytoplasma: mattblau
Erythrozyten: rosabeige
Thrombozyten Chromomer: violettrot
Thrombozyten Hyalomer: bläulich
Blutparasiten Zellkern: rot
Blutparasiten Zytoplasma: blau

Falls die beobachteten von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte über Ihren gewöhnlichen Händler an den technischen Dienst von RAL Diagnostics.

Leistung

Die Leistung der Kit RAL StainBox BBM-Reagenzien wurde in einem Krankenhauslabor an 300 Objektträgern getestet (Blut und Knochenmark). Die Empfindlichkeit der Kit RAL StainBox BBM-Reagenzien wurde im Vergleich zum üblichen Referenz-Laborverfahren (MGG im Färbebad) untersucht. Alle Tests wurden unter denselben Bedingungen parallel durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass die Wirksamkeit des Kit RAL StainBox BBM mit der Routinemethode „MGG“ vergleichbar ist.

Zur Gewährleistung der Produktleistung ist saubere und trockene Laborausrüstung zu verwenden.

Das Labor ist dafür verantwortlich, den Hersteller und die zuständige Aufsichtsbehörde über alle schwerwiegenden Ereignisse im Zusammenhang mit der Verwendung des Medizinprodukts zu unterrichten.

Benutzer-Qualitätskontrolle

Benutzer sind für die Festlegung der geeigneten Qualitätskontrollverfahren für ihr Labor und die Einhaltung der geltenden Laborvorschriften verantwortlich.

RAL Diagnostics empfiehlt bei Austausch der Reagenzien und beim ersten Färbezyklus des Tages die Färbung eines frisch angefertigten Blutausrichs mit normaler Leukozytenzahl und ohne bekannte pathologische Auffälligkeiten durchzuführen. Für die Qualitätskontrolle gefärbte Objektträger sollten überprüft werden, um sicherzustellen, dass sie für den vorgesehenen Test geeignet sind (ordnungsgemäße Färbung und frei von Ausfällungen).

Diese Qualitätskontrollverfahren dürfen nur von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

Sonstige Produkte

Setzen Sie sich für weitere Informationen mit Ihrem gewöhnlichen Händler in Verbindung.

Empfehlungen, Hinweise und Fehlerbehebung

Erscheinungsbild des Produkts

Falls das Aussehen des Produkts von der obigen Beschreibung abweicht, verwenden Sie es nicht, sondern wenden Sie sich bitte an den technischen Dienst von RAL Diagnostics.

Verfahrenshinweise

Um eine Zersetzung des Produkts zu vermeiden, beachten Sie bitte die in diesem Handbuch angegebenen Lagerungs- und Handhabungsbedingungen.

Es wird dringend empfohlen, Flasche 5 (R5) einmal pro Woche oder alle 75 Objektträger auszutauschen. Beim Austauschen des Kits muss jedes Mal sichergestellt werden, dass alle Sicherheitsringe und -abdeckungen entfernt worden sind, bevor die Flaschen eingeschraubt werden.

Bei Auftreten von Brechungs-/Wasserartefakten sind die Objektträger vor der Färbung 2 Minuten in einem Bad mit absolutem Ethanol vorzufixieren.

Produktstabilität

Jedes RAL Diagnostics-Produkt kann bis zu dem angegebenen Verfallsdatum verwendet werden, wenn es in seiner Originalverpackung aufbewahrt wird und hermetisch verschlossen bleibt.

Stabilität der Färbung

Die Qualität und Reproduzierbarkeit der Färbung werden durch die korrekte Verwendung der Produkte erreicht.

Färbungen, die gemäß diesen Empfehlungen durchgeführt werden, bleiben mehrere Tage lang stabil. Sollte es notwendig sein, die gefärbten Ausstriche über mehrere Monate oder Jahre aufzubewahren, empfiehlt RAL Diagnostics, sie mit einem Deckglas und einer geeigneten Eindeckflüssigkeit zu fixieren und in einem licht- und staubgeschützten Behälter aufzubewahren.

Anweisungen zur Reinigung und Abfallentsorgung

Sämtliche biologischen Proben, Flüssigabfälle und benutzten Verbrauchsgüter sind als potentiell gefährlich einzustufen.



Zur Vermeidung von Risiken sind die folgenden Anweisungen einzuhalten: Proben, Flüssigabfälle und Verbrauchsmaterialien in Übereinstimmung mit den Laborstandards und geltenden nationalen und lokalen Normen und Vorschriften entsorgen.

Die Entsorgung und Aufbereitung chemischer und biologischer Abfälle muss durch spezialisierte und zugelassene Unternehmen erfolgen.

Tabelle der Symbole und Abkürzungen

Abhängig vom jeweiligen Produkt finden Sie folgende Symbole auf dem Gerät oder am Verpackungsmaterial.

GHS-Piktogramme	Bedeutung
	Explosiv
	Entzündlich
	Oxidationsmittel
	Verdichtet Gas
	Ätzend
	Toxisch
	Schädlich
	Gesundheitsgefährdung
	Umweltgefährdung
	Keine Kennzeichnung anwendbar

Symbole	Bedeutung
	Chargenbezeichnung
	Seriennummer
	Bestellnummer
	Herstellungsdatum
	Verwendbar bis
	Produktidentifizierungsnummer
	Hersteller
	Importeur
	Einrichtung, die das Medizinprodukt in der jeweiligen Region vertreibt
	Produkt mit CE-Kennzeichnung
	In-vitro-Diagnostikum
	Bevollmächtigter in der Europäischen Union
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Entspricht den UK-Richtlinien
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden
	Vor Sonnenlicht schützen
	Temperaturbegrenzung: 15–25 °C
	Temperaturbegrenzung: 15–30 °C
	Vor Nässe schützen
	Verpackung: Nach oben halten
	Zerbrechlich
	Sterilisiert durch Bestrahlung
	Einfaches Sterilbarrieresystem mit äußerer Schutzverpackung
	Steriler und strahlensterilisierter Schutzanzug
	Nicht wiederverwenden
	Nicht erneut sterilisieren
	Inhalt reicht für n Tests
	Enthält Gefahrstoff
	Gebrauchsanweisung beachten
	Anwendung
	Nach dem Öffnen innerhalb von XX Monaten verwenden
	Das Produkt nicht in Verbindung mit einer automatischen Färbemaschine verwenden
	Kennzeichnet ein Medizinprodukt, das potenziell krebserzeugende, erbgutverändernde oder fortpflanzungsgefährdende (CMR-) Stoffe oder als endokrinschädigend eingestufte Stoffe enthält

Literatur

BENATTAR L., FLANDRIN G., *Morphometry and Quality Control for a May-Grünwald Giemsa stained preparation. A 40 centers cooperative study. Leuk. & Lymphoma* 1999, 33, 587-591.

BENATTAR L., FLANDRIN G., *Etapas de l'automatisation de l'étude microscopique du sang. Rencontre Médecins biologistes, 2002. ATEB, Journée Technique Parisienne, März 1977.*

DUHAMEL G., DUHAMEL E., *Cytologie hématologique, Les cellules pathologiques I et II, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Biologiste et Praticien et Réactifs RAL,* 1984 und 1989.

Ecole Nationale de Chimie, *Coloration de Pappenheim, Présentation théorique des mécanismes cytochimiques des colorants neutres avec applications techniques détaillées, Journée du technicien biologiste, März 1980, S. 1-9.*

GENTILHOMME O., TREILLE-RITOUET D., BRYON P-A., *Cytologie hématologique, Les cellules normales, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Réactifs R.A.L,* 1989.

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

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

Änderungsverfolgung

Datum	Version	Änderungen
05/2022	IFU002A-RAL	Entspricht IVDR (EU) 2017/746

RAL Diagnostics - Site Montesquieu - 33650 Martillac – Frankreich
T +33 (0)5 57 96 04 04 – F +33 (0)5 57 96 04 55 – ral-diagnostics.fr / cellavision.com