

GIEMSA OTOPINA



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

Polikromatska otopina eozina Y, metilenskog modrila i azurnih boja

Za bojenje u hematologiji, citologiji i za bojenje prereza krvotvornih organa u histopatologiji

UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC3010302HMCA				
EMDN kód	W0103010302				
REF	Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj	REF	Kataloški broj
GM-OT-100		100 mL	03858888822095	GM-OT-1L	
GM-OT-110		10x100 mL	03858888829018	GM-OT-2.5L	
GM-OT-500		500 mL	03858888822101	GM-OT-20L	



Namjena proizvoda i načelo testiranja

Polikromatske Romanowsky boje standardno se koriste u hematologiji za bojenje krvnih razmaza i koštane srži. 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 koji se ne može postići ukoliko se svaka komponenta koristi zasebno, a iskazuje se stvaranjem ljubičaste boje. Intenzitet obojenja ovisi o sadržaju azura B te omjeru azura B i eozina Y dok na sam rezultat bojenja utječe nekoliko čimbenika: pH vrijednost radne otopine te puferske otopine, način fiksacije te vrijeme izlaganja boji. BioGnostova Giemsa otopina koristi se za diferencijaciju jezgrine i/ili citoplazmatske morfologije limfocita, monocita, granulocita (neutrofila, eozinofila, bazofila), trombocita i eritrocita. Postoje razne metode u kojima se koristi Giemsa otopina, a jedna od najpoznatijih je tzv. metoda po Pappenheimu, odnosno May-Gruenwald Giemsa metoda gdje se u kombinaciji s May-Gruenwald otopinom boje citološki materijali (razmazi periferne krvi, aspirati citodijagnostičke punkcije, stanice iz izljeva ili sekreta) ili prerezi krvotvornih organa. Uz Pappenheim, Giemsa otopina se vrlo često koristi i za detektiranje kromosomskih aberacija u citogenetici.

Opis proizvoda

- GIEMSA OTOPINA** - Otopina eozina, metilenskog modrila i azurnih boja u metanolu i glicerolu uz dodatak stabilizatora

Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Polikromatski Romanowsky reagensi poput BioGnostove **May-Gruenwald** otopine
- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- 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 infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Plus 56/58, BioWax Blue
- Sredstvo za dekalifikaciju poput BioGnostovog OsteoSensa
- 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
- BioGnostove Puferske tablete pH 6,8 ili 7,2
- Reagensi za fiksaciju poput BioGnostovog Histanola M
- BioGnostova Octena kiselina za histologiju

Priprema otopina

Puferska otopina pH 6,8

- Otopiti 1 pufersku tabletu pH 6,8 u 1 litri destilirane/demineralizirane vode uz miješanje.
- Napomena: U postupku bojenja moguće je koristiti i pufersku otopinu pH vrijednosti 7,2 ili kombinaciju puferskih otopina pH 6,8 i 7,2, a rezultati postupka bojenja mogu se razlikovati u pomaku prema crvenom ili plavom spektru boje.

Radna otopina Giemse za standardnu metodu bojenja

- Dodati 10 mL otopine Giemse u 190 mL puferske otopine pH 6,8, dobro promiješati, pustiti da odstoji 10 minuta. Po potrebi filtrirati.

Radna otopina Giemse za perioperativnu metodu bojenja

- Dodati 50 mL otopine Giemse u 50 mL puferske otopine pH 6,8, dobro promiješati, pustiti da odstoji 10 minuta. Po potrebi filtrirati.

Radna otopina Giemse za brzu metodu bojenja

- Dodati 33 mL otopine Giemse u 66 mL puferske otopine pH 6,8, dobro promiješati, pustiti da odstoji 10 minuta. Po potrebi filtrirati.

0,1%-tna vodena otopina octene kiseline

- 0,1 mL BioGnostove Octene kiseline za histologiju dodati u 99,9 mL destilirane/demineralizirane vode.

A1) Postupak bojenja krvnog razmaza Giemsa otopinom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Fiksirati krvne razmaze osušene na zraku izlaganjem metanolu (Histanol M)	5 minuta
3.	Uroniti fiksirani razmaz u radnu Giemsa otopinu	15-20 minuta
4.	Isprati razmaz u puferskoj otopini pH 6,8 – dvije izmjene	2 izmjene od 1 minute
5.	Osušiti preparat na zraku	

A2) Postupak bojenja krvnog razmaza brzom Giemsa metodom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Fiksirati krvne razmaze osušene na zraku izlaganjem metanolu (Histanol M)	1-3 minute
3.	Uroniti fiksirani razmaz u radnu Giemsa otopinu	3 minute
4.	Isprati razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	2 izmjene od 1 minute
5.	Osušiti preparat na zraku	

A3) Postupak bojenja krvnog razmaza May-Gruenwald Giemsa (Pappenheim) standardnom metodom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Nanijeti May-Gruenwald otopinu na osušeni razmaz	3-5 minuta
3.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8.	
4.	Nanijeti radnu Giemsa otopinu na razmaz	15-20 minuta
5.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8.	
6.	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferske otopine kako bi se temeljito uklonili ostaci boje te postigli jasnu i izoštrenu sliku obojenih struktura. Isprati otopinu nakon 10-30 sekundi	
6.	Osušiti preparat na zraku	

A4) Postupak bojenja krvnog razmaza May-Gruenwald Giemsa (Pappenheim) perioperativnom metodom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Nanijeti May-Gruenwald otopinu na osušeni razmaz	1-2 minuta
3.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	
4.	Nanijeti radnu Giemsa otopinu na razmaz	5 minuta
5.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	
6.	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferske otopine kako bi se temeljito uklonili ostaci boje te postigli jasnu i izoštrenu sliku obojenih struktura. Isprati otopinu nakon 10-30 sekundi	
6.	Osušiti preparat na zraku	

Rezultat (pH 6,8)

Jezgre – purpurna do ljubičasta boja
 Plazma limfocita – plava boja
 Plazma monocita – sivkasto plava boja
 Neutrofilna granula – svijetlo ljubičasta boja

Eozinofilna granula – svijetlocrvena boja
 Bazofilna granula – tamnoljubičasta do crna boja
 Trombociti – ljubičasta boja
 Eritrociti – crvenkasta boja

Priprema histoloških preparata i otopina za bojenje Giemsa otopinom (biopsija koštane srži, ilijačne kosti)

- Uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100)
- Dekalcificirati uzorak uranjanjem u blago djelujuće sredstvo za dekalifikaciju (OsteoSens). Ostaviti sredstvo da djeluje 6 sati
- Uzorak pažljivo narezati na manje dijelove (5-20 μ m). Ukoliko je potrebno, ponovno tretirati sredstvom za dekalifikaciju (OsteoSens) u trajanju od 20 minuta
- Prosvjetliti uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New)
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (BioWax Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue)
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo

B) Postupak bojenja histoloških preparata Giemsa otopinom

1.	Deparafinirati ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New) i rehidrirati kroz seriju silaznih alkoholnih otopina (Histanol 100, Histanol 95, Histanol 80 i Histanol 70)	
2.	Ispirati destiliranom/demineraliziranom vodom	10 sek
3.	Obojiti Giemsa otopinom do postizanja optimalnog obojenja preparata	10-15 min
	Napomena: U ovom koraku ne koristiti radnu otopinu Giemse, već nerazrijeđenu	
4.	Diferencirati 0,1%-tnom otopinom octene kiseline	10 sek
5.	Ispirati destiliranom/demineraliziranom vodom	10 sek
6.	Dehidrirati kroz tri izmjene izopropilnog alkohola (Histanol IP)	3 izmjene od 10 sek
7.	Izbistriti kroz dvije izmjene ksilena (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New)	2 izmjene od 2 min

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.

Rezultat

Jezgre – plava boja
 Kolagen, osteoid – svijetloplava boja
 Eozinofilna zrnca – crvena boja
 Acidofilni mukopolisaharidi, mastociti, matriks hrskavice – crveno ljubičasta boja
 Acidofilne supstance – narančasto crvena boja

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od opisanog postupka bojenja u ovoj Uputi za rukovanje mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

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. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole.

Ukoliko tijekom upotrebe ovog proizvoda 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 direktnoj 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. 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. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, *Zentralb f Bakt*; 89, str. 99-106.
4. International Committee for Standardization in Haematology (1984): ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain), *British Journal of Haematology*, 57, str. 707-710.
5. May, R. et Grünwald L. (1909): *Über die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode*, *Deutsche med Wschr*, 35, str. 1751-1752.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:		
	H226 H301 + H311 + H331 H370 P210 P233 P280 P301 + P310 P302 + P352 P304 + P340 P308 + P311	Zapaljiva tekućina i para. Otrovno ako se proguta, u dodiru s kožom ili ako se udiše. Uzrokuje oštećenje organa (očiju). Čuvati odvojeno od toplote, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti. Čuvati u dobro zatvorenom spremniku. Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. AKO SE PROGUTA: odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/liječnika. U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom vode. AKO SE UDIŠE: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje. U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/liječnika.

GM-IFU_HRV26, 23.02.2026. 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.
 Medugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.biognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
26	Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 - IVDR	23.02.2026.