

WRIGHT-GIEMSA OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

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

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: WRGM-OT-100 (100 mL) WRGM-OT-500 (500 mL) WRGM-OT-1L (1000 mL) WRGM-OT-2.5L

Uvod

Polikromatske Romanowsky boje standardno se koriste u hematologiji za bojenje krvnih razmaza i koštane srži. Razne vrste Romanowsky boja (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Wright-Giemsa, 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 Wright-Giemsa otopina koristi se za diferencijaciju jezgrine i/ili citoplazmatske morfologije trombocita, eritrocita, limfocita u krvnom razmazu ili aspiratu koštane srži.

Opis proizvoda

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

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

- 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 Puferske tablete pH 6,8 ili 7,2

Priprema otopina

Puferska otopina pH 6,8 koristi se u bojenju hematoloških i citoloških razmaza.

Puferska otopina pH 7,2 koristi se u bojenju hematoloških razmaza u kojima se očekuju krvni paraziti.

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

Radna Wright-Giemsa otopina za brzo bojenje (omjer Wright-Giemsa i puferska otopina 1:3)

Radna otopina priprema se u omjeru 1:3 (npr. dodati 30 mL otopine Wright-Giemsa u 60 mL puferske otopine pH 6,8 ili pH 7,2 te dobro promiješati)

Radna Wright-Giemsa otopina za klasično bojenje (omjer Wright-Giemsa i puferska otopina 1:5)

Radna otopina priprema se u omjeru 1:5 (npr. dodati 20 mL otopine Wright-Giemsa u 80 mL puferske otopine pH 6,8 ili pH 7,2 te dobro promiješati)

A1) Postupak brzog bojenja razmaza periferne krvi Wright-Giemsa otopinom

Napomena: postupak bojenja se može izvoditi u horizontalnom ili vertikalnom položaju

| | | |
|----|---|-------------------------|
| 1. | Osušiti preparat na zraku | |
| 2. | Fiksirati preparate osušene na zraku izlaganjem metanolu (Histanol M) | 1-3 minuta |
| 3. | Osušiti preparat na zraku | |
| 4. | Preparat prekriti Wright-Giemsa radnom otopinom za brzo bojenje (1:3) | 10 minuta |
| 5. | Isprati preparat u puferskoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2 (ovisno koja je korištena za pripremu radne otopine) – tri izmjene | 3 izmjene od 30 sekundi |
| 6. | Osušiti preparat na zraku (preparati moraju biti u potpunosti suhi) | |
| | <p><i>Napomena za dobivanje trajnih preparata:</i> Za dobivanje trajnih preparata kratko isprati preparate u dvije izmjene Histanola 100. Osušiti preparat na zraku (preparati moraju biti u potpunosti suhi). Nakon sušenja na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla: BioMount DPX ili BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.</p> | |

A2) Klasični postupak bojenja razmaza periferne krvi Wright-Giemsa otopinom

Napomena: postupak bojenja se može izvoditi u horizontalnom ili vertikalnom položaju

| | | |
|----|---|-------------------------|
| 1. | Osušiti preparat na zraku | |
| 2. | Fiksirati preparate osušene na zraku izlaganjem metanolu (Histanol M) | 1-3 minuta |
| 3. | Osušiti preparat na zraku | |
| 4. | Preparat prekriti Wright-Giemsa radnom otopinom za klasično bojenje (1:5) | 20 minuta |
| 5. | Isprati preparat u puferskoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2 (ovisno koja je korištena za | 3 izmjene od 30 sekundi |

| | | |
|-----------|---|--|
| | pripremu radne otopine) – tri izmjene | |
| 6. | Osušiti preparat na zraku (preparati moraju biti u potpunosti suhi) | |
| | <p><i>Napomena za dobivanje trajnih preparata:</i> Za dobivanje trajnih preparata kratko isprati preparate u dvije izmjene Histanola 100. Osušiti preparat na zraku (preparati moraju biti u potpunosti suhi). Nakon sušenja na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla: BioMount DPX ili BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.</p> | |

Rezultat (pH 6,8)

Jezgra – ljubičasta boja
Citoplazma limfocita –plava boja
Citoplazma monocita – sivkasto ili svijetlo plava boja
Neutrofilne granule – svijetlo crveno-ljubičasta boja
Eozinofilne granule – crveno-smeđa boja
Bazofilne granule – tamno plavo-ljubičasta boja
Granule trombocita – crveno-ljubičasta boja
Eritrociti – narančasto-crvena boja

Rezultat (pH 7,2)

Jezgra – ljubičasta boja
Citoplazma limfocita –plava boja
Citoplazma monocita – sivkasto ili svijetlo plava boja
Neutrofilne granule – svijetlo crveno-ljubičasta boja
Eozinofilne granule – crveno-smeđa boja
Bazofilne granule – tamno plavo-ljubičasta boja
Granule trombocita – crveno-ljubičasta boja
Eritrociti – sivkasta do narančasto-crvena 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 najsvremenijom 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

Wright-Giemsa 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.
6. May, R. et Grünwald L. (1909): *Über die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode*, Deutsche med Xschr, 35, str. 1751-1752.

WRGM-OT-X, V4, 09.02.2018., AK/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 |  Vrijedi do |  Broj serije |  Proizvođač |
|  Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu |  Čuvati na suhom |  Oprez lomljivo | | |

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

