

WRIGHT-GIEMSA, OTOPINA ZA GMAZOVE

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Modificirana Romanowsky boja za bojenje u hematologiji gmazova

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: WRGG-OT-100 (100 mL) WRGG-OT-500 (500 mL) WRGG-OT-1L (1000 mL) WRGG-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. Medudjelovanjem 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 za gmazove koristi se za diferencijaciju jezgrine i/ili citoplazmatske morfologije trombocita, eritrocita, limfocita u krvnom razmazu gmazova.

Opis proizvoda

- WRIGHT-GIEMSA, OTOPINA ZA GMAZOVE** – Modificirana Romanowsky boja za bojenje u hematologiji gmazova.

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Predmetna stakla za primjenu u hematologiji poput VitroGnost STANDARD GRADE ili predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput VitroGnost SUPER GRADE ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18mm do 24x60mm
- BioGnostova sredstva za imerziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostove Puferske tablete pH 6,8 ili 7,2

Priprema otopina

Puferska otopina pH 6,8

- Otopiti 1 pufersku tabletu pH 6,8 u 1 litri destilirane 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. Rezultati postupka bojenja mogu se razlikovati u pomaku prema crvenom ili plavom spektru boje.

Razrijeđena Wright-Giemsa, otopina za gmazove za A2) Postupak bojenja krvnog razmaza u posudici za bojenje

- Nakon 2. koraka iskorištenju Wright Giemsa, otopinu za gmazove nakon razrijediti s puferskom otopinom pH 6,8 u omjeru 1:1 (npr. 50 mL Wright-Giemsa, otopine za gmazove i 50 mL puferske otopine pH 6,8)

A1) Postupak bojenja krvnog razmaza na staklu za bojenje

| | | |
|----|---|-------|
| 1. | Osušiti krvni razmaz na zraku | |
| 2. | Nanijeti Wright-Giemsa, otopinu za gmazove (1 mL) na razmaz i pustiti da djeluje | 3 min |
| 3. | Nanijeti pufersku otopinu pH 6,8 (1 mL) na Wright-Giemsa, otopinu za gmazove te lagano promiješati i pustiti da djeluje | 6 min |
| | Napomena: Nakon bojenja nagnuti preparat i izliti otopinu. | |
| 4. | Nanijeti pufersku otopinu pH 6,8 i pustiti da djeluje | 1 min |
| 5. | Dobro isprati u puferskoj otopini pH 6,8 dok se ne ukloni višak boje | |
| 6. | Osušiti preparat na zraku | |

A2) Postupak bojenja krvnog razmaza u posudici za bojenje

| | | |
|----|--|-------|
| 1. | Osušiti krvni razmaz na zraku | |
| 2. | Uroniti preparat u Wright-Giemsa, otopinu za gmazove | 3 min |
| 3. | Uroniti preparat u razrijeđenu Wright-Giemsa, otopinu za gmazove | 6 min |
| 4. | Uroniti preparat u pufersku otopinu pH 6,8 i pustiti da djeluje | 1 min |
| 5. | Dobro isprati u puferskoj otopini pH 6,8 dok se ne ukloni višak boje | |
| 6. | Osušiti preparat na zraku | |

Rezultat (pH 6,8)

Jezgra –ljubičasta boja

Plazma limfocita – plava boja

Plazma monocita – sivkasto plava boja

Neutrofilna granula – svjetlo ljubičasta boja

Eozinofilna granula – crveno narančasta boja

Bazofilna granula – tamno ljubičasta do crna boja

Trombociti – ljubičasta boja

Eritrociti – crvena boja

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 uzorka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom 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 mјere 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 za gnezove 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 Haematological 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, *Zentralbl f Bakteriol*; 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 Feuchtpräparaten mit meiner Azur-Eosine methode*, Deutsche med Xschr, 35, str. 1751-1752.

WRGG-OT-X, V4, 29.09.2017., AK/VR

| | |
|--|--|
| | Obavezno proučiti priloženu dokumentaciju |
| | Pročitati priloženu uputu |
| | Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu |

| | |
|--|--------------------------------------|
| | Temperaturni raspon čuvanja |
| | Čuvati od topline i sunčevog svjetla |
| | Čuvati na suhom |
| | Oprez lomljivo |

