

WRIGHT 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: WR-OT-100 (100 mL) WR-OT-500 (500 mL) WR-OT-1L (1000 mL)

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, 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 puferne otopine, način fiksacije te vrijeme izlaganja boji. BioGnostova Wright otopina koristi se za diferencijaciju jezgrine i/ili citoplazmatske morfologije trombocita, eritrocita, limfocita u krvnom razmazu ili aspiratu koštane srži. Osim u hematologiji koristi se i za bojenje kromosoma u citogenetici u svrhu otkrivanja kromosomskih aberacija i dijagnosticiranja genetskih sindroma.

Opis proizvoda

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

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 Imerziskog ulja, Imerziskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerziskog ulja Tropical Grade
- BioGnostove Puferne tablete pH 6,8 ili 7,2

Priprema otopina

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

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

- Otopiti 1 pufernu tabletu u 1 litri destilirane vode uz miješanje. Nakon otapanja filtrirati.
Napomena: U postupku bojenja moguće je koristiti pufernu otopinu pH vrijednosti 6,8, 7,2 ili kombinaciju pufernih otopina pH 6,8 i 7,2. Rezultati postupka bojenja mogu se razlikovati u pomaku prema crvenom ili plavom spektru boje.

Radna otopina Wright za vertikalno bojenje

- Pomiješati 30 mL Wright otopine s 150 mL destilirane/demineralizirane vode i 20 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2. Ostaviti da odstoji 10 minuta. Filtrirati prije upotrebe.

Radna otopina Wright za bojenje u automatskom bojaču

- Pomiješati 50 mL Wright otopine s 220 mL destilirane/demineralizirane vode i 30 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2. Ostaviti da odstoji 10 minuta. Filtrirati prije upotrebe.

A1) Postupak horizontalnog bojenja razmaza (na stalku za bojenje)

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Postaviti preparat u horizontalni položaj te ga prekriti s 1 mL nerazrijeđene Wright otopine	1 min
3.	Dodati 1 mL puferne otopine pH 6,8 ili pH 7,2, lagano promiješati i pustiti da djeluje	4 min
4.	Isprati puferskom otopinom pH 6,8 ili pH 7,2 kroz dvije izmjene	2 izmjene od 1 min
5.	Osušiti preparat na zraku	

A2) Postupak vertikalnog bojenja razmaza (u posudici za bojenje)

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Uroniti preparat u nerazrijeđenu Wright otopinu	3 min
3.	Uroniti preparat u Radnu otopinu Wright za vertikalno bojenje	6 min
4.	Isprati u pufernoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2 kroz dvije izmjene	2 izmjene od 1 min
5.	Osušiti preparat na zraku	

A3) Postupak bojenja krvnog razmaza u automatskom bojaču

1.	Osušiti preparat na zraku	
2.	Uroniti preparat u nerazrijeđenu Wright otopinu	3 min
3.	Uroniti preparat u Radnu otopinu Wright za bojenje u automatskom bojaču	6 min
4.	Isprati u pufernoj otopini pH 6,8 ili pH 7,2	1 min
5.	Isprati u vodovodnoj vodi	2 min
6.	Osušiti preparat na zraku	

	Rezultat (pH 6,8)	Rezultat (pH 7,2)
Jezgra	Crveno-purpurna boja	Plavo-purpurna boja
Citoplazma limfocita	Plava boja	Plava boja
Citoplazma monocita	Sivo-plava boja	Sivo-plava boja
Neutrofilne granule	Svijetlo purpurna boja	Svijetlo purpurna boja
Eozinofilne granule	Tamno crvena do crveno-smeđa boja	Crvena do crveno-smeđa boja
Bazofilne granule	Tamno purpurna do crna boja	Tamno purpurna do crna boja
Trombociti	Purpurna boja	Purpurna boja
Eritrociti	Crvenkasta boja	Crvenkasto-siva 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 uzoraka 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 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 otopinu čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na +15°C do +25°C. 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.

WR-OT-X, V9, 21.05.2019., IŠP/IVR

 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.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

