

MAY-GRUENWALD OTOPINA

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

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

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: MG-OT-100 (100 mL) MG-OT-110 (10x100 mL) MG-OT-500 (500 mL) MG-OT-1L (1000 mL) MG-OT-2.5 (2500 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 puferske otopine, način fiksacije te vrijeme izlaganja boji. BioGnostova May-Gruenwald otopina koristi se za bojenje koštane srži i razmaza periferne krvi; za bojenje limfocita, monocita, granulocita (neutrofila, eozinofila i bazofila), trombocita i eritrocita. U citologiji se pomoću May-Gruenwald otopine boje aspirati citodijagnostičke punkcije, stanice iz izljeva i sekreta. Jedna od najpoznatijih metoda u kojoj se May-Gruenwald otopina koristi jest u kombinaciji s Giemsa otopinom u May-Gruenwald Giemsa, odnosno Pappenheim metodi.

Opis proizvoda

- MAY-GRUENWALD OTOPINA** - Otopina eozina i metilenskog modrila u metanolu uz dodatak stabilizatora.

Osali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi:

- Polikromatski Romanowsky reagensi poput BioGnostove Giemsa otopine
- 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
- BioGnostove Puferske tablete pH 6,8 ili 7,2
- Reagensi za fiksaciju poput BioGnostovog Histanola M

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 otopina May-Gruenwald

- Pomiješati 30 mL May-Gruenwald otopine s 150 mL destilirane/demineralizirane vode i 20 mL puferske otopine.

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.

A1) Postupak bojenja krvnog razmaza May-Gruenwald otopinom uranjanjem

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Uroniti fiksirani krvni razmaz u May-Gruenwald otopinu	3 minute
3.	Uroniti fiksirani krvni razmaz u razrijeđenju May-Gruenwald	6 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 May-Gruenwald otopinom na stalku

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Nanijeti 1 mL May-Gruenwald otopine na fiksirani krvni razmaz	3 minute
3.	Bez izlivanja May-Gruenwald otopine, dodati 1 mL puferske otopine pH 6,8 na preparat i lagano pomiješati. Pustiti da djeluje	6 minuta
4.	Isprati razmaz puferskom otopinom pH 6,8	
5.	Osušiti preparat na zraku.	

Rezultat (pH 6,8)

Jezgra – crveno ružičasta boja

Plazma limfocita – plava boja

Plazma monocita – sivo plava boja

Neutrofilna granula – svijetlo ljubičasta boja

Eozinofilna granula – crveno do crveno smeđa boja

Bazofilna granula – tamno ljubičasta do crna boja

Trombociti – ljubičasta boja

Eritrociti – crvena boja

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.	
	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferске 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.	
	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferске 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)

Jezgra – ljubičasta boja
 Plazma limfocita – plava boja
 Plazma monocita – sivo plava boja
 Neutrofilna granula – svijetlo ljubičasta boja
 Eozinofilna granula – crvena do tamno ljubičasta boja
 Bazofilna granula – tamno ljubičasta do crna boja
 Trombociti – ljubičasta boja
 Eritrociti – crvenkasta 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

May-Gruenwald 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.

MG-OT-X, V18, 28.07.2019., IŠP/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		Opazuj lomljivo				

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

