

# GIEMSA SPRENDIMAS

**IVD** In vitro diagnostinis medicinos prietaisas

CE

## Polichromatinis eozino, metileno mėlynojo ir žydros spalvos tirpalas

Naudojamas dažymui hematologijoje, citologijoje ir kraujodaros organų sekcijų dažymui histopatologijoje

### INS NAUDOJIMOSI TRAUKCIJOS

**REF** Katalogo numeris: GM-OT-100 (100 ml) GM-OT-1010 (10 x 100 ml) GM-OT-500 (500 ml) GM-OT-1L (1000 ml) GM-OT-2.5L (2500 ml)

#### Įvadas

Polichromatiniai Romanowsky dažai yra kraujo tepinėlių ir kaulų čiulpių hematologijos standartas. Įvairių rūšių Romanowsky dažai (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner ir kiti) turi skirtingą santykį metileno pamėlynančio reagento, naudojamo kaip katijonų komponentas (ir su reagentu susijusių tiazinų dažų, pvz., Azure B) ir eozino Y kaip anijonų komponentas. Katijonų ir anijonų komponentų sąveika sukuria gerai žinomą Romanovskio efektą, kurio neįmanoma pasiekti, jei kiekvienas komponentas naudojamas atskirai. Violetinė spalva rodo efekto buvimą. Dažymo intensyvumas priklauso nuo žydros B kiekio, taip pat nuo žydros B ir eozino Y santykio, o dažymo rezultatai įtakos turi keli kiti veiksniai: darbinio tirpalo pH vertė ir buferinis tirpalas, fiksavimo būdas ir dažų poveikio laikas. BioGnost Giemsa tirpalas naudojamas limfocitų, monocitų, granulocitų (neutrofilų, eozinofilų, bazofilų), trombocitų ir eritrocitų branduolinei ir/ar citoplazminei morfologijai diferencijuoti. Yra įvairių Giemsa tirpalo panaudojimo būdų, vienas dažniausiai naudojamų yra vadinamasis Pappenheimo metodas. Metodos iš esmės yra May-Gruenwald Giemsa metodas, derinamas su May-Gruenwald tirpalu, kuris nudažo citologinę medžiagą (periferinio kraujo tepinėlius, citodiagnostikos punkcijas aspiracijas, viduriavimo ar sekrecijos išstotes) arba hematopoetinių organų sekcijas. Kartu su Pappenheimo metodu Giemsa tirpalas dažniausiai naudojamas chromosomatinėms aberacijoms aptikti citogenetikoje.

#### Prekės aprašymas

- GIEMSA SOLUTION - eozino, metileno mėlyninimo reagento ir žydros spalvos dažų tirpalas metanolyje ir glicerolyje su pridėtu stabilizatoriumi.

Kiti skyriai ir reagentai, kurie gali būti naudojami dažymui:

- Fiksatoriai, tokie kaip BioGnost neutralūs buferiniai formaldehido tirpalai: Formaldehidas NB 4%, Formaldehidas NB 10%
- Dehidratuojantis / rehidratuojantis agentas, pvz., BioGnost alkoholio tirpalai: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 ir Histanol 100
- Clearing agents, pvz BioClear, pvz., BioClear, pavyzdžiui, BioClear New agentas alifatinų angliavandenių pagrindu Infiltracija ir
- tvirtinimo priemonė, tokia kaip BioGnost granuliuotas parafinas BioWax Plus, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro.
- Aukštos kokybės stiklinės stiklinės, skirtos naudoti histopatologijoje ir citologijoje, tokios kaip VitroGnost SUPER GRADE, VitroGnost COLOR arba vienas iš daugiau nei 30 BioGnost modelių VitroGnost stiklinių fiksuojamieji,
- tokie kaip BioGnost Histanol M BioGnost
- imersijos aliejus
- BioGnost buferio tabletės, pH 6,8 arba 7,2

#### Tirpalų ruošimas

Buferinis tirpalas, pH 6,8

Maišydami ištirpinkite 1 pH 6,8 buferinę tabletę 1 litre distiliuoto vandens.

Pastaba: dažymo proceso metu galima naudoti pH 7,2 buferinį tirpalą arba pH 6,8 ir 7,2 buferinių tirpalų derinį, o proceso rezultatai spalvų spektre gali skirtis link raudonos arba mėlynos spalvos.

Darbinis Giemsa tirpalas standartiniam dažymo būdui

Įpilkite 10 ml Giemsa tirpalo į 190 ml pH 6,8 buferinio tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 min. Jei reikia, filtruokite.

Veikiantis Giemsa sprendimas greitam metodui

Įpilkite 33 ml Giemsa tirpalo į 66 ml pH 6,8 buferinio tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 min. Jei reikia, filtruokite.

Veikiantis Giemsa tirpalas perioperaciniam dažymo metodui

Įpilkite 10 ml Giemsa tirpalo į 50 ml pH 6,8 buferinio tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 min. Jei reikia, filtruokite.

0,1% acto tirpalo vandens tirpalas

- Į 99,9 ml distiliuoto/demineralizuoto vandens įpilkite 0,1 ml BioGnost histologinės acto rūgšties.

A1) Kraujo tepinėlio dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą (standartinis metodas)

1.	Leiskite tepiniui išdžiūti ore	
2.	Pataisykite anksčiau išdžiūvusius kraujo tepinėlius panardindami juos į metanolį (Histanol M)	5 min
3.	Panardinkite fiksuotą dalį į veikiantį Giemsa tirpalą	15-20 minučių
4.	Išskalaukite tepinėlių buferiniu pH 6,8 tirpalu – du kartus keiskite	2 apsikeitimai, po 1 minutę
5.	Išdžiovinkite stiklį oru	

A2) Kraujo tepinėlio dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą (greitasis metodas)

1.	Leiskite tepiniui išdžiūti ore	
2.	Pataisykite anksčiau išdžiūvusius kraujo tepinėlius panardindami juos į metanolį (Histanol M)	1-3 min
3.	Panardinkite fiksuotą dalį į veikiantį Giemsa tirpalą	3 minutes
4.	Išskalaukite tepinėlių buferiniu pH 6,8 tirpalu – du kartus keiskite	2 apsikeitimai, po 1 minutę
5.	Išdžiovinkite stiklį oru	

A3) Kraujo tepinėlio dažymo procedūra naudojant May-Gruenwald Giemsa (Pappenheimas) standartinį metodą

1.	Leiskite tepiniui išdžiūti ore	
2.	Išdžiovintą tepinėlių patepkite May-Gruenwald tirpalu	3-5 minutes
3.	Išskalaukite tepinėlių pH 6,8 buferiniu tirpalu.	
4.	Užtepkite tepinėlių veikiančiu Giemsa tirpalu	15-20 minučių
5.	Išskalaukite tepinėlių pH 6,8 buferiniu tirpalu.	
	Pastaba: Jei reikia, ant stiklelio užtepkite mažesnį buferinio tirpalo tūrį, kad gerai pašalintumėte dažų perteklių ir kad dėmėtos struktūros būtų aiškiai matomos. Nuplaukite tirpalą po 10-30 sekundžių.	
6.	Išdžiovinkite stiklį oru	

A4) Kraujo tepinėlio dažymo procedūra naudojant May-Gruenwald Giemsa (Pappenheim) perioperacinį metodą

1.	Leiskite tepiniui išdžiūti ore	
2.	Išdžiovintą tepinėį patepkite May-Gruenwald tirpalu	1-2 minutes
3.	Išskalaukite tepinėį pH 6,8 buferiniu tirpalu.	
4.	Užtepkite tepinėį veikiančiu Giemsa tirpalu	5 min
5.	Išskalaukite tepinėį pH 6,8 buferiniu tirpalu.	
	Pastaba: Jei reikia, ant stiklielio užtepkite mažesnį buferinio tirpalo tūrį, kad gerai pašalintumėte dažų perteklių ir kad dėmėtos struktūros būtų aiškiai matomos. Nuplaukite tirpalą po 10-30 sekundžių.	
6.	Išdžiovinkite preparatą ore	

Rezultatas (pH 6,8)

Branduoliai nuo violetinės iki violetinės  
Limfocitų plazma - mėlyna Monocitų  
plazma - pilkai mėlyna Neutrofilo  
granulė - Šviesiai violetinė Eozinofilų  
granulė - Raudona  
Bazofilų granulės - nuo tamsiai violetinės iki juodos  
Trombocitai - violetinės  
**Eritrocitai – rausvi**

Histologinių stiklelių ir tirpalų paruošimas dažymui Giemsa tirpalu (kaulų čiulpų biopsija, klubo sąnario biopsija)

- Pritvirtinkite mėginį (Formaldehidas NB 4%, Formaldehidas NB 10%), nuplaukite vandeniu ir nusauskinkite per eilę kylančių alkoholio tirpalų (Histanol 70, Histanol). 80, Histanol 95 ir Histanol 100).
- Nukalkinkite mėginį, panardindami jį į švelnų kalkių šalinimo priemonę (OsteoSens). Laikykite panardintą 6 valandas.
- Mėginį atsargiai supjaustykite mažais griežinėliais (5-20 µm). Jei reikia, dar kartą apdorokite kalkių šalinimo priemone (OsteoSens) 20 min. Nuvalykite mėginį tarpine terpe; ksilene (BioClear) arba ksileno pakaitalu (BioClear New).
- Infiltruokite ir įdėkite mėginį į parafiną (BioWax Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro). Parafino bloką supjaustykite 4–6 µm griežinėliais ir padėkite ant VitroGnost stikliele.

B) Histologinio stiklelių dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą

1.	Deparafinuokite skyrių naudodami ksileną (BioClear) arba ksileno pakaitalą (BioClear New), tada rehidratuokite sekciją mažėjančiais alkoholio tirpalais (Histanol 100, Histanol 95, Histanol 80 ir Histanol 70).	
2.	Nuplaukite sekciją distiliuotu/demineralizuotu vandeniu	10 sekundžių
3.	Dažykite pjūvį naudodami Giemsa tirpalą, kol jis bus optimaliai nudažytas	10-15 min
	Pastaba: Šiame žingsnyje vietoj darbinio tirpalo naudokite neskiestą Giemsa tirpalą	
4.	Atskirkite pjūvį naudodami 0,1% acto rūgšties tirpalą	10 sekundžių
5.	Nuplaukite sekciją distiliuotu/demineralizuotu vandeniu	10 sekundžių
6.	Dehidratuokite sekciją tris kartus pakeitę izopropilo alkoholių (Histanol IP)	3 apsikeitimai po 10 sekundžių
7.	Išvalykite sekciją du kartus keisdami ksileną (BioClear) arba ksileno pakaitalą (BioClear New)	2 mainai, po 2 minutes

Iškart po išvalymo užtepkite atitinkamą BioMount terpę, skirtą uždengti/montuoti ant sekcijos. Jei buvo naudojamas BioClear ksilenas, naudokite vieną iš BioGnost montuojamų ksileno laikmenų (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C arba universalią BioMount New). Jei buvo naudojamas BioClear New ksileno pakaitalas, tinkama dengimo priemonė yra BioMount New. Uždenkite sekciją VitroGnost dengiančiu stiklu.

Rezultatai

Branduoliai – mėlyni  
Kolagenas, osteoidinis – šviesiai mėlynos  
Eozinofilų granulės – raudonos  
Acidofilinis mukopolisacharidas, mastocitai, kremzlės matrica - raudona-violetinė  
Acidofilinės medžiagos - oranžinė-raudona

Pastaba

Dažymo procesų laikotarpiai nėra visiškai standartizuoti ir maždaug atitinka klinikinę ir laboratorinę praktinę patirtį. Dažymo intensyvumas priklauso nuo panardinimo į dažus periodo. Tikras dažymo protokolas priklauso nuo asmeninių pageidavimų ir prioritetų.

Mėginio paruošimas ir diagnostika

Mėginiams rinkti ir ruošti naudokite tik tinkamus instrumentus. Apdorokite pavyzdžius šiuolaikinėmis technologijomis ir aiškiai pažymėkite. Tvarkydami laikykite gamintojo nurodymų. Siekiant išvengti klaidų, dažymo procedūrą ir diagnostiką turėtų atlikti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Naudokite tik mikroskopą pagal medicinos diagnostikos laboratorijos standartus.

Darbo sauga ir aplinkos apsauga

Su gaminiu elkitės laikydamiesi saugos darbe ir aplinkos apsaugos nurodymų. Panaudoti tirpalai ir pasenę tirpalai turi būti šalinami kaip specialios atliekos pagal nacionalines gaires. Šioje procedūroje naudojami reagentai gali kelti pavojų žmonių sveikatai. Iširti audinių mėginiai yra potencialiai užkrečiami. Būtinos saugos priemonės žmonių sveikatai apsaugoti turėtų būti imamosi laikantis geros laboratorinės praktikos. Veikti pagal ženklus ir įspėjimus, išspausdintus ant gaminio etiketės, taip pat BioGnost medžiagų saugos duomenų lapę.

Sandėliavimas, stabilumas ir galiojimo laikas

Giemsa tirpalą laikykite sandariai uždarytoje originalioje pakuotėje +15°C – +25°C temperatūroje. Nelaikykite šaltose vietose, neušaldykite ir venkite tiesioginių saulės spindulių. Gamybos data ir galiojimo laikas yra atspausdinti ant gaminio etiketės.

Nuorodos

1. Beck, RC (1938): *Hematologinės technikos laboratorinis vadovas*, Filadelfija, WB Saunders & Co.
2. Dacie, J. ir Lewis S. (1995): *Praktinė hematologija*, 4<sup>ml</sup> leid., Londonas, Churchill Livingstone.
3. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, *Zentralb f Bakt*; 89, 99-106 p.
4. Tarptautinis hematologijos standartizacijos komitetas (1984). *British Journal of Hematology*, 57, p. 707-710.
5. May, R. et Grünwald L. (1909): „*Iber die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode*“, Deutsche med Xschr, 35, p. 1751–1752.

GM-OT-X, V25-EN13, gegužės 22 d 2019, IŠP/VR

	Žiūrėkite pateiktą dokumentaciją		Rekomenduojamas temperatūros diapazonas		Skaičius sandymui paketa	REF	Produktas		Europos		Gamintojas
	Žiūrėkite pateiktą nurodymus		Laikyti atokiai nuo šiluma ir saulės šviesa		Galioja iki	LOT	Lot numeris		Gamintojas		
IVD	Už švitinimo duoti tik diagnostikos tikslais		Laikyti sausoje vietoje		Atsargiai - trapios						

BIOGNOST Ltd.  
Medjugorska g. 59  
10040 Zagrebas  
KROATIJA  
www.biognost.com

