

CE In vitro diagnostikos tikslais

GIEMSA TIRPALAS

Polichromatinio eozino, metileno mėlynojo ir azūro dažų tirpalas

Skirtas hematologiniams, citologiniams, preparatams dažyti.

Katalogo Nr. GM-OT100; GM-OT110; GM-OT-500; GM-OT-1L; GM-OT-2,5L

Įvadas

Polichrominiai Romanowskio dažai yra hematologinių kraujo tepinėlių dažymo standartas. Įvairios rūšys Romanowskio dažų (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner ir kt.) skiriasi savo sudėtinėmis dalimis. Pavyzdžiui, Azūras B, kurio sudėtyje yra reagentas panašus į tiazino dažus ir eozinas Y kaip anijonų komponentas. Katijonai ir anijonai sukuria gerai žinomą Romanowskio efektą, kuris galimas tik naudojant visus komponentus. Purpurinė spalva reiškia, kad efektas pasiektas. Dažymo intensyvumas priklauso nuo azūro B kiekio taip pat ir nuo azūro B ir eozinas Y santykio. Kai tuo tarpu kiti keli faktoriai veiktakoją dažymo rezultatus: darbinio tirpalo pH, fiksavimo metodas ir ekspozicijos laikas. BioGnost Giemsa tirpalas naudojamas atskyrimui branduolio ir/ar limfocitų, granulocitų (neutrofilų, euzinofilų, bazofilų), trombocitų ir eritrocitų. Yra keletas Giemsa tirpalo dažymo metodų, taip vadinamų Pappenheim metodu, jis plačiausiai naudojamas. Tai yra May-Gruenwald Giemsa metodo kombinacija su May-Gruenwald tirpalo naudojimu, kuris nudažo citolominę medžiagą (periferinio kraujo tepinėlis, citodiagnostinius punktatus, diarėjos ar sekreto ląsteles) ar hematopoietinius organų pjūvius. Kartu su Pappenheim metodu Giemsa tirpalas paprastai naudojamas chromosomų aberacijoms nustatyti citogenetikoje.

Produkto aprašymas

Giemsa tirpalas - eozino, metileno mėlynojo ir azūro dažai metanolio ir glicerolio mišinyje su stabilizatoriais.

Kiti produktai ir reagentai, kuriuos galima naudoti dažymui

- Vandens pašalinimo/prijungimo medžiagos tokios kaip BioGnost alkoholiniai tirpalai: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95, Histanol 100 ir Histanol IP.
- Aukštos kokybės stiklai naudojami histopatologijoje ir citologijoje tokie, kaip VitroGnost Super Grade ar vienas iš daugiau nei 30 BioGnost stiklų modelių.
- VitroGnost drengiamieji stiklai įvairių dydžių: nuo 18x18 iki 24x60mm.
- Fiksatoriai – BioGnost Histanol M.
- Imersiniai aliejai.
- BioGnost buferinės tabletės pH 6,8 ir pH 7,2.

Tirpalų paruošimas

Buferis pH 6,8

- Ištirpinkite 1 pH 6,8 buferio tabletę 1-ame litre distiliuoto vandens.

Buferis pH 7,2

- Ištirpinkite 1 pH 7,2 buferio tabletę 1-ame litre distiliuoto vandens.

Darbinis Giemsa reagentas

- Į 190 ml 6,8 pH buferinio tirpalo įpilkite 10 ml Giemsa tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 minučių. Jei reikia, filtruokite.

Darbinis „Giemsa“ tirpalas greitam metodui

- Į 66 ml 6,8 pH buferinio tirpalo įpilkite 33 ml Giemsa tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 minučių. Jei reikia, filtruokite.

Darbinis Giemsa tirpalas perioperaciniam dažymo metodui

- Į 50 ml 6,8 pH buferinio tirpalo įpilkite 10 ml Giemsa tirpalo, gerai išmaišykite ir palikite 10 minučių. 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) Dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą (standartinis metodas).

- Paruoškite kraujo mėginio tepinėlį.
- Fiksuokite išdžiovintą mėginį įmerkdami į metanolį (Histanol M) 5 minutes.
- Išdžiovinkite.
- Padėkite tepinėlį horizontalioje padėtyje ir užpilkite darbinio Giemsa tirpalo. Palaikykite 15-20 min.
- Plaukite tepinėlį dviejuose induose su buferiniu tirpalu pH 6,8 arba pH 7,2 (priklausomai nuo to, kokį pH naudojote darbinio tirpalo paruošimui) 2 talpose po 1 minutę.
- Išdžiovinkite ore -turi išdžiūti pilnai.

A2) Dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą (greitas metodas)

- Leiskite jam išdžiūti.
- Fiksuokite išdžiovintą mėginį įmerkdami į metanolį (Histanol M) 1-3 minutes.
- Įmerkite fiksuotą mėginį į darbinį „Giemsa“ tirpalą 3 minutėms
- Plaukite tepinėlį buferiniu tirpalu pH 6,8 arba 7,2 (naudokite tokį pH, priklausomai nuo to, kokį naudojote darbinio tirpalo ruošimui) plaukite 2 talpose po 1 minutę

Išdžiovinkite stikliuką.

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

- Leiskite jam išdžiūti.
- Tepinėlį padenkite May-Grunwald tirpalu ir palaukite 3-5min.
- Plaukite tepinėlį buferiniu tirpalu pH 6,8 arba 7,2 (naudokite tokį pH, priklausomai nuo to, kokį naudojote darbinio tirpalo ruošimui)
- Padenkite tepinėlį Giemsa darbinio tirpalu ir palaukite 15-20 min.
- Plaukite tepinėlį buferiniu tirpalu pH 6,8 arba 7,2 (naudokite tokį pH, priklausomai nuo to, kokį naudojote darbinio tirpalo ruošimui)

Išdžiovinkite stikliuką.

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

- Leiskite jam išdžiūti.
- Tepinėlį padenkite May-Grunwald tirpalu ir palaukite 1-2min.
- Plaukite tepinėlį buferiniu tirpalu pH 6,8 arba 7,2 (naudokite tokį pH, priklausomai nuo to, kokį naudojote darbinio tirpalo ruošimui)
- Padenkite tepinėlį Giemsa darbinio tirpalu ir palaukite 5 min.
- Plaukite tepinėlį buferiniu tirpalu pH 6,8 arba 7,2 (naudokite tokį pH, priklausomai nuo to, kokį naudojote darbinio tirpalo ruošimui)

Pastaba: jei reikia, ant stiklio užtepkite mažesnę buferinio tirpalo kiekį, kad kruopščiai pašalintumėte perteklinį dažų kiekį ir

- aiškiai matomos nudažytos struktūros. Po 10-30 sekundžių nuplaukite tirpalą.

Išdžiovinkite stikliuką.

Rezultatas (pH 6,8)

Branduoliai - nuo violetinės iki violetinės

Limfocitų plazma - mėlyna

Monocitų plazma - pilkai mėlyna

Neutrofilų granulės - šviesiai violetinės

Eozinofilų granulės - raudonos

Basofilų granulės - nuo tamsiai violetinės iki juodos spalvos

Trombocitai - violetiniai

Eritrocitai - rausvi

Histologinių mėginių paruošimas Giemsa tirpalu dažyti (kaulų čiulpų biopsija, ilium biopsija)

- Užfiksuokite mėginį (formaldehidas NB 4%, formaldehidas NB 10%), nuplaukite vandeniu ir dehidratuokite didėjančio alkoholio tirpalų serijomis (Histanol 70, Histanol

80, Histanol 95 ir Histanol 100).

- Pašalinkite mėginį, panardindami jį į švelnų kalkių šalinimo agentą (OsteoSens). Laikykite jį panardinus 6 valandas.
- Atsargiai supjaustykite mėginį (5-20 µm) griežinėliais. Jei reikia, 20 minučių dar kartą nukalkinkite jį kalkių šalinimo priemone (OsteoSens).
- Išvalykite mėginį su tarpine medžiaga; ksilene (BioClear) arba ksileno pakaitale (BioClear New).
- Infiltruokite ir įterpkite 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 stiklelio „VitroGnost“.

B) Histologinių skaidrių dažymo procedūra naudojant Giemsa tirpalą

- Deparafinizuokite pjūvį, naudodami ksileną (BioClear) arba ksileno pakaitalą (BioClear New), tada rehidratuokite pjūvį talpose mažėjančių alkoholio tirpalų (Histanol 100, Histanol 95, Histanol 80 ir Histanol 70).
- Išskalaukite pjūvį distiliuotu / demineralizuotu vandeniu (10 sekundžių)
- Optimaliai padenkite Giemza dažais mėginį (10-15 minučių). Pastaba: naudokite nepraskiestą Giemzą tirpalą.
- Diferencijuoti pjūvį naudojant 0,1% acto rūgšties tirpalą (10 sekundžių);
- Išskalaukite pjūvį distiliuotu / demineralizuotu vandeniu (10 sekundžių);
- Dehidratuoti pjūvį per tris isopropilo alkoholio mainus (Histanol IP) (3 talpose, kiekvienoje po 10 sekundžių);
- Išvalykite pjūvį per du ksileno (BioClear) arba ksileno pakaitalo keitiklius (BioClear New) (2 talpose, kiekvienoje po 2 min.).

Iš karto po valymo, naudokite atitinkamą BioMount terpę, skirtą padengti pjūvį. Jei naudojamas "BioClear" ksilenas, naudokite vieną iš "BioGnost" montavimo ksilenu pagrįstos terpės (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C arba universalus BioMount New). Jei buvo naudojamas "BioClear New" ksileno pakaitalas, tinkamas padengimo agentas yra "BioMount New". Uždenkite "VitroGnost" dengiamuoju stiklu.

Rezultatai

Branduolys - mėlynas

Kolagenas, osteoidas - šviesiai mėlynas

Eozinofilo granulės - raudonos spalvos

Acidophilic mukopolisacharidas, mastocitai, kremzlės matrica - raudonos violetinės spalvos

Acidophilic medžiagos - oranžinės spalvos

Pastabos

Dažymo procesų trukmės nėra visiškai standartizuotos ir apytikriai atitinka klinikinę ir laboratorinę praktinę patirtį. Dažymo intensyvumas priklauso nuo to, kaip jis yra panardintas į dažų periodą. Tikrasis spalvinimo rezultatas priklauso nuo asmeninių užklausų ir prioritetų.

Mėginio paruošimas ir diagnostika

Naudokite atitinkamas darbo priemones mėginiams surinkti. Paruoškite mėginius naudodami šiuolaikines technologijas ir paženklinkite juos aiškiai.

Sauga darbo vietoje ir aplinkos apsauga

Dirbkite vadovaudamiesi saugaus darbo ir aplinkos apsaugos taisyklėmis. Visi darbo procese naudojami chemikalai ir jų tirpalai yra kenksmingi sveikatai. Informacija apie pavojus pateikta medžiagos saugos duomenų lapuose.

Saugojimas, stabilumas ir galiojimo laikai

Giemsa tirpalas turi būti saugomas kambario temperatūroje 15-25°C. Nelaikykite šaltoje patalpoje, neužšaldykite, nelaikykite esant tiesioginiams saulės spinduliams. Produktas galioja iki datos nurodytos ant pakuotės.

Nuorodos:

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. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, *Zentralbl f Bakt*; 89, pp 99-106.
4. International Committee for Standardization in Haematology (1984): ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain), *British Journal of Haematology*, 57, p 707-710.
5. May, R. et Grünwald L. (1909): Über die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode, *Deutsche med Xschr*, 35, pp 1751-1752.

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

	Refer to the supplied documentation		Storage temperature range		Number of tests in package		Product code		European Conformity
	Refer to supplied instructions		Keep away from heat and sunlight		Valid until		Lot number		Manufacturer
	For in vitro diagnostic use only		Keep in dry place		Caution - fragile				

BIOGNOST Ltd.
Medjugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com



Tikslus vertimas iš anglų kalbos:

Data: 2019-06-01

Vertė Živilė Sukackienė

UAB „Medfarmos“ laboratorijos

P. Smuglevičiaus g. 1, Vilnius,

Tel.: 8 5 2700101

