

GIEMSA SOLUTION



In vitro diagnosztikus orvostechnikai eszköz



BIOGNOST®

Eosin, metilén- és azúrkék tartalmú polikróm oldat

Hematológiai, citológiai festésekhez és hematopoiitikus szövetekből készült metszetek jelölésére

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ



Katalógus szám: GM-OT-100 (100ml) GM-OT-1010 (10x100 ml) GM-OT-500 (500 ml) GM-OT-1L (1000 ml) GM-OT-2.5L (2500 ml)

Bevezetés

A polikróm Romanowsky festékek standardnak számítanak a vérkenetek és csontvelő festésére. A számos típusú Romanowsky festék (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner stb.) különböző arányban tartalmazza a metilénkék reagenst, amely a kationos komponens (és az ezzel kapcsolt tiazin festéket, mint az azúr B) és az eosin Y-t, mint anionos komponenst. A kationos és anionos komponens közötti kölcsönhatás eredményezi a jól ismert Romanowsky effektust, amely az egyes összetevőkkel külön-külön nem elérhető. A lila szín jelzi az effektus meglétét. A festés intenzitása az azúr B mennyiség, valamint az azúr B – eosin Y arány függvénye, emellett a festés eredményét egyéb faktorok is befolyásolják, mint a munkaoldat pH értéke, puffer oldat, fixálás módja és a festés időtartama. A BioGnost Giemsa lymphocyták, monocyták, granulocyták (neutrophil, eosinophil, basophil), thrombocyták és erythrocyták nukleáris és/vagy citoplazmás morfológiájának differenciációjára alkalmas. Számos módja van a Giemsa oldat felhasználásának, a leggyakrabban az úgynevezett Pappenheim módszert alkalmazzák. Az eljárás lényegében a May-Grünwald Giemsa festés és May-Grünwald oldat kombinált alkalmazása, amely citológiai minták (perifériás vérkenetek, aspirációs citológiai preparátumok, szekréciós hasmenés) vagy hematopoiitikus szövetekből készült szövettani metszetek festésére alkalmas. A Giemsa oldatot gyakran használják a Pappenheim módszer mellett kromoszómaaberrációk detektálására is.

Termék leírása

- **GIEMSA SOLUTION** – eosin, metilénkék és azúr festékek metanolos és glycerolos oldata hozzáadott stabilizálókkal.

Egyéb használható eszközök és reagensek:

- Fixálószer, mint a BioGnost neutrális pufferezett formalin oldata: Formaldehyde NB 4%, Formaldehyde NB 10%
- Dehidrátor/rehidrátor szerek, mint a BioGnost alkohol oldatok: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 és Histanol 100
- Derítő oldatok, mint a BioClear xilol vagy helyettesítői, mint a BioClear New, mely alifás szénhidrogén alapú
- Beágyazó közeg, mint a BioGnost granulált paraffin, a BioWax 52/54, BioWax Plus 56/58, BioWax 56/68, BioWax Blue, BioWax Micro.
- Magas minőségű tárgylemezek, mint a VitroGnost SUPER GRADE, VitroGnost COLOR vagy a BioGnost több, mint 30 tárgylemez típusa közül bármelyik.
- Fedő anyag, mint a BioGnost BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount New, BioMount New Low, BioMount DPX, BioMount DPX High, BioMount DPX Low, BioMount C, BioMount Aqua
- Fixálószer, mint a BioGnost Histanol M
- VitroGnost fedőlemezek 18 x 18 mm-es mérettől 24 x 60 mm-es méretig
- BioGnost immerziós olajok, például az Immersion oil vagy Immersion oil 37, A, vagy FF típus
- BioGnost puffer tabletták, pH 6.8 vagy 7.2

A munkaoldatok elkészítése

Puffer oldat, pH 6.8

Oldjon fel 1 pH 6.8 puffer tablettát 1 liter desztillált vízben keverés mellett.

Megjegyzés: A festéshez használható pH 7.2-es puffer. vagy pH 6.8 és 7.2-es pufferek keveréke is, ebben az esetben a szín eltolódhat a piros vagy kék spektrum irányába.

Giemsa munkaoldat standard festési eljárásához

Adjon 10 ml Giemsa oldatot 190 ml pH 6.8-as puffer oldathoz, keverje el és hagyja állni 10 percig. Szűrje, amennyiben szükséges.

Giemsa munkaoldat gyors festési eljárásához

Adjon 33 ml Giemsa oldatot 66 ml pH 6.8-as puffer oldathoz, keverje el és hagyja állni 10 percig. Szűrje, amennyiben szükséges.

Giemsa munkaoldat perioperatív festési eljárásához

Adjon 10 ml Giemsa oldatot 50 ml pH 6.8-as puffer oldathoz, keverje el és hagyja állni 10 percig. Szűrje, amennyiben szükséges.

0.1%-os vizes ecetsav oldat

Adjon 0.1 ml BioGnost ecetsavat 99.9 ml desztillált/ioncserélt vízhez.

A1) Vér kenet festés Giemsa oldattal (standard módszer)

1.	Hagyja a kenetet megszáradni	
2.	Fixálja az előzőleg megszáradt kenetet metanolba (Histanol M) merítéssel	5 perc
3.	Merítse a fixált mintát Giemsa munkaoldatba	15 - 20 perc
4.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban – 2 váltás	1 perc mindkét váltásban
5.	Szárátsa a tárgylemezt levegőn	

A2) Vér kenet festés Giemsa oldattal (gyors módszer)

1.	Hagyja a kenetet megszáradni	
2.	Fixálja az előzőleg megszáradt kenetet metanolba (Histanol M) merítéssel	1 - 3 perc
3.	Merítse a fixált mintát Giemsa munkaoldatba	3 perc
4.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban – 2 váltás	1 perc mindkét váltásban
5.	Szárítsa a tárgylemezt levegőn	

A3) Vér kenet festés May-Grünwald Giemsa (Pappenheim) oldattal (standard módszer)

1.	Hagyja a kenetet megszáradni	
2.	Merítse May-Grünwald oldatba a megszáradt kenetet	3 - 5 perc
3.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban	
4.	Merítse a kenetet Giemsa munkaoldatba	15-20 perc
5.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban	
	Megjegyzés: amennyiben szükséges, vigyen fel kevesebb pufferoldatot a tárgylemez lemosásához, hogy tisztán láthatóvá váljanak a differenciált struktúrák. 10-30 másodperc elteltével öblítse le a mintát.	
6.	Szárítsa a tárgylemezt levegőn	

A3) Vér kenet festés May-Grünwald Giemsa (Pappenheim) oldattal (perioperatív módszer)

1.	Hagyja a kenetet megszáradni	
2.	Merítse May-Grünwald oldatba a megszáradt kenetet	1 - 2 perc
3.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban	
4.	Merítse a kenetet Giemsa munkaoldatba	5 perc
5.	Öblítse a mintát pH 6.8-as puffer oldatban	
	Megjegyzés: amennyiben szükséges, vigyen fel kevesebb pufferoldatot a tárgylemez lemosásához, hogy tisztán láthatóvá váljanak a differenciált struktúrák. 10-30 másodperc elteltével öblítse le a mintát.	
6.	Szárítsa a tárgylemezt levegőn	

A festés eredménye (pH 6.8)

Nucleusok – lila különböző árnyalatai
 Lymphocyta sejtplazma - kék
 Monocyta sejtplazma - szürkés-kék
 Neutrophil granulomok - világoslila
 Eosinophil granulomok - vörös
 Basophil granulomok – sötétlila - fekete
 Thrombocyták - lila
 Erythrocyták – vöröses

Szöveti metszetek és oldatok előkészítése Giemsa festéshez (csontvelő biopszia, ilium biopszia)

- Fixálja a mintát (Formaldehide NB 4%, Formaldehyde NB 10%), mossa vízben és víztelenítse felszálló alkoholsorozatban (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95, Histanol 100).
- Dekalcinálja a mintát kíméletes dekalcináló oldatban (OsteoSens) 6 órán keresztül.
- Vágja a mintát óvatosan kisebb darabokra (5-20 µm). Amennyiben szükséges, kezelje újra dekalcinálóval (OsteoSens) 20 percre.
- Derítse a mintát xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New).
- Ágyazza be majd öntse ki a mintát paraffinba (BioWax Plus, BioWax 52/54, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Készítsen a paraffinos blokkból 4-6 µm-es metszeteket és húzza fel VitroGnost tárgylemezre.

B) Szöveti metszetek festése Giemsa oldattal

1.	Deparaffinálja a metszeteket xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New), majd rehidráálja leszálló alkoholsorozatban (Histanol 100, Histanol 95, Histanol 80 és Histanol 70)	
2.	Öblítse a metszetet desztillált/ioncserélt vízzel	10 másodperc
3.	Fesse a metszetet Giemsa oldattal az optimális festődésig	10 – 15 perc
	Megjegyzés: ehhez a lépéshez tömény Giemsa oldatot használjon, ne a hígított munkaoldatot	
4.	Differenciálja a metszetet 0.1%-os ecetsavban	10 másodperc
5.	Öblítse a metszetet desztillált/ioncserélt vízzel	10 másodperc
	Víztelenítse a metszetet három váltás izopropil alkoholban (Histanol IP)	10 másodperc mindhárom váltásban
6.	Derítse a metszeteket a metszeteket xilolban (BioClear) vagy xilol helyettesítőben (BioClear New)	2 perc mindkét váltásban

A derítés után közvetlenül fedjük le a metszeteket a megfelelő BioMount fedő médiummal. Amennyiben BioClear xilolt használtunk, fedjük a BioGnost egyik xilol-bázisú fedőanyagával (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C, vagy az univerzális BioMount New). Ha BioClear New xilol helyettesítőt használtunk, az ezzel kompatibilis használandó fedőanyag a BioMount New. Fedjük a metszetet VitroGnost fedőlemezzel.

A festés eredménye

Nucleusok - kék
 Collagen, osteoid - világoskék
 Eosinophil granulomok - vörös
 Acidophil mucopolysacharidok, mastocyták, porc alapállomány – vöröses - lila
 Acidophil anyagok - narancs - vörös

Megjegyzés

A festési módszerek nem standardizált eljárások, nagyban függenek az egyes laboratóriumok működési folyamataitól és az eljárást végző személyzet tapasztalatától. A festés intenzitása a festékeknek és reagenseknek való kitettség időtartamától függ. A festési eljárás egyéb protokollok alapján is elvégezhető egyéni preferenciának és az adott laboratórium standard működési folyamatainak megfelelően.

A minta előkészítése és diagnosztika

A minta levételéhez és előkészítéséhez csak erre alkalmas eszközt használjon! A minták feldolgozása korszerű körülmények között és világos megjelöléssel végezhető. Mindig kövesse a gyártó használati útmutatóját! A hibák elkerülése érdekében a festési eljárást és annak kiértékelését arra jogosult és képzett szakszemélyzet végezze el! Kiértékeléshez az orvosi diagnosztikai laboratóriumok követelményrendszerének megfelelő mikroszkópot használjon! A hibás eredmény elkerülése érdekében mindig végezzen pozitív és negatív kontroll vizsgálatot!

Munka- és környezetvédelem

A terméket a munkavédelmi és környezetvédelmi irányelveknek megfelelően használja! A használt vagy lejárt szavatossági idejű oldatokat a nemzeti ajánlásoknak megfelelően veszélyes anyagként kell kezelni és megsemmisíteni. Az ehhez a festési eljáráshoz alkalmazott reagensek veszélyesek lehetnek az emberi egészségre. A folyamat során vizsgált minták fertőzésveszélyt jelenthetnek. Az emberi egészség megóvása érdekében a jó laboratóriumi gyakorlatnak megfelelő ajánlott védő intézkedések betartása javasolt. A termékek a rajtuk található figyelmeztető jelzéseknek, valamint a BioGnost termékbiztonsági adatlapjaiban leírtaknak megfelelően kezelendők.

Tárolás, stabilitás és lejárati idő

A Giemsa solution szorosan lezárt eredeti csomagolásában 15°C és 25°C között tárolandó. A reagenst ne tartsuk hidegben, nem fagyasztható és ne tegyük ki direkt napfénynek. A gyártás és a lejárati dátuma a termékcímkén található.

Referenciák

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, Zentralb 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 Wschr, 35, pp 1751-1752.

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

	Lásd a mellékelt dokumentumon		Tárolási hőmérséklet		Tesztek száma csomagolásonként		Termékkód		Európai minősítés
	Lásd a mellékelt útmutatót		Hőtől és fénytől védve tárolandó		Minőségét megőrzi		Lot szám		Gyártó
	In vitro diagnosztikai alkalmazásra		Száraz helyen tárolandó		Vigyázat, törékeny				



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

