

Красители для гематологии

Код: HS003 Гимза

Код: HS004 Май-Грюнвальд



Гимза - Май-Грюнвальд

Назначение

Гимза и Май-Грюнвальд - красители Романовского, используются для дифференцировки клеток в мазках человеческой периферической крови и костного мозга. Некоторые авторы рекомендуют использовать их для окрашивания малярийных паразитов в толстой капле крови.

Только для диагностики *In Vitro*.

Только для профессионального использования.

Клиническое значение

Информация, полученная в результате изучения мазков крови, является чрезвычайно важной. Окрашенные мазки крови являются лучшим средством изучения морфологии клеток крови и паразитов. Таким образом, они могут предоставить информацию о заболеваниях крови (например, анемии, лейкомии), которые изменяют количество, внешний вид, размер или форму эритроцитов, лейкоцитов или тромбоцитов.

Принцип работы

Красители по Романовскому, такие как Гимза, по Май-Грюнвальду и Райту, состоят из метиленового синего и его окисленной формы (основной краситель), а также эозина (кислотный краситель). Основной краситель связывает кислотные компоненты клеток (нуклеиновые кислоты, базофильные структуры, кислоты и белки), тем самым окрашивая их в красно-фиолетовый цвет.

Кислотный краситель, такой как эозин, окрашивает основные компоненты, такие как гемоглобин и эозинофильные гранулы. Соотношение между метиленовым синим и его окисленными формами, а также между основными красителями и эозином определяют интенсивность окрашивания и синеву оттенка. Эти соотношения характерны для каждого красителя Романовского.

Состав реагента:

Гимза (1 x 500 мл):

Гимза эозин-метиленовой синий	7,0 г/л
Метанол	50%
Глицерин	50%

Май - Грюнвальд (1 x 500 мл):

Май-Грюнвальда-эозин метиленовой синий	2,7 г/л
Метанол	> 99,9%

Меры предосторожности

Гимза (HS003), Май-Грюнвальд (HS004): содержит метанол. H225 - Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H301 + H311 + H331 - Токсично при проглатывании, контакте с кожей или при вдыхании. H370 - вызывает повреждение органов. P210: Беречь от тепла, горячих поверхностей, открытого огня и других источников возгорания. Не курить. P260 - Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / аэрозолей. P280 - Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица. P308 + P311 - В СЛУЧАЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ или обеспокоенности: обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР / к врачу. P321 - Специальное лечение. P370 + P378 - В случае пожара: использовать средства, описанные в пункте 5 Паспорта безопасности. P403 + P233 - хранить в хорошо вентилируемом месте.

Хранить контейнер плотно закрытым.

Красители токсичны и легко воспламеняются из-за содержания в них метанола. Утилизация отходов должна производиться в соответствии с действующими местными правилами.

Приготовление

Краситель Май-Грюнвальд готов к использованию.

Краситель Гимза необходимо разбавить 1/10 3,3 мМ фосфатным буфером (7,0-7,2) Примечание 4.

Хранение и стабильность

При хранении при температуре 15-30°C реагенты остаются стабильными до истечения срока годности, указанного на этикетке. Емкости всегда нужно держать плотно закрытыми.

Для некоторых реагентов со временем может образовываться легкий осадок. Это, тем не менее, не влияет на их функциональность.

Избегайте чрезмерного холода, так как это может вызвать выпадение осадка. В этом случае, перед использованием краситель следует

отфильтровать. Также может потребоваться более длительное время окрашивания из-за потери красителя при осаждении. Рабочий реагент (разведение 1/10) стабилен в течение 3 часов при комнатной температуре ($\leq 25^\circ\text{C}$).

Дополнительное оборудование, не включенное в набор

- Общее лабораторное оборудование
- Предметные стекла
- Приспособление для окрашивания образца (ручное или автоматическое)
- Фосфатный буфер (pH 7,0 – 7,2), концентрация 3,3 мМ Примечание 4
- Метанол
- Микроскоп

Образцы

Образцы пленок крови, высушенные на воздухе. Рекомендуется, чтобы пленки были однородными и тонкими для лучшей фиксации красителя без переокрашивания.

Окрашивание следует проводить в течение двух часов после подготовки для получения хороших результатов. Старые мазки могут окрашиваться неравномерно.

Идеальным образцом является капиллярная кровь, но если используется венозная кровь, то в качестве антикоагулянта следует использовать ЭДТА. Не рекомендуется использовать гепарин.

Обращайтесь с образцами осторожно из-за их потенциально инфекционной природы.

Процедура:

Гимза:

1. Непосредственно перед использованием разведите краситель (Нормальный Гимза) 1/10 в фосфатном буфере (pH 7,0 - 7,2).
2. Зафиксируйте высушенную на воздухе пленку крови метанолом на 3 мин.
3. По истечении этого времени слейте метанол. Без предварительной смывки покройте предметное стекло разбавленным красителем и дайте ему постоять 8-20 минут, в зависимости от желаемой интенсивности окрашивания.
4. Обильно промойте фосфатным буфером (pH 7,0-7,2) и дайте высохнуть на воздухе.
5. Осмотрите под микроскопом.

Май-Грюнвальд - Гимза:

1. Покройте высушенную на воздухе пленку крови без фиксации красителем известного объема Май-Грюнвальда (примерно 2 мл) и дайте ему постоять в течение 3 минут.
2. Слейте краситель, наклонив предметное стекло, и без предварительной смывки накройте предметное стекло красителем Гимзы, который был недавно разбавлен 1/10 фосфатным буфером (pH 7,0 - 7,2).
3. Через 8-20 минут промойте фосфатным буфером (pH 7,0 - 7,2) и дайте высохнуть на воздухе.
4. Осмотрите под микроскопом.

Интерпретация результатов

Эритроциты: розовый или розово-оранжевый.

Тромбоциты: бледно-фиолетовые или пурпурные.

Нейтрофилы: темно-фиолетовое ядро. Розовая цитоплазма с красно-фиолетовыми гранулами.

Эозинофилы: фиолетовое ядро. Синяя цитоплазма и красные или оранжево-красные гранулы.

Базофилы: темно-синее или фиолетовое ядро. Гранулы фиолетовые, почти черные.

Лимфоциты: пурпурное ядро. Небесно-голубая цитоплазма.

Моноциты: очень бледно-фиолетовое ядро. Небесно-голубая цитоплазма. Заявленные результаты являются ориентировочными. Интенсивность цвета и оттенки могут меняться в зависимости от pH используемого буфера. Как правило, при понижении pH цвет становится более красноватым.

Контроль качества

Рекомендуется использовать образцы QC, чтобы оценить соответствующее окрашивание компонентов образца. Каждая лаборатория должна разработать свою собственную схему контроля качества и корректирующие действия, если средства контроля не соответствуют установленным критериям.

Мы рекомендуем следовать методам контроля качества, установленным CLSI.

Ограничения процедуры

Клинический диагноз не следует ставить на основании одного результата теста; он должен включать клинические и другие лабораторные данные.

Примечания

1. Время окрашивания (8-20 минут) будет зависеть от желаемой интенсивности цвета, которая будет варьироваться в зависимости от критериев пользователя. Интенсивность цвета напрямую зависит от времени окрашивания. Окрашенный образец необходимо хранить вдали от влаги для получения оптимальных результатов.

2. Каждый пользователь может применять разные версии этой процедуры, как ручные, так и автоматизированные, адаптируя ее к своему стандартному методу.

3. Мы не рекомендуем использовать для полоскания водопроводную воду, так как водопроводная вода имеет переменный pH, содержание соли и хлора. Эти компоненты могут повлиять на результаты окрашивания и не могут повторяться изо дня в день.

4. Концентрация буфера очень важна. Более высокая концентрация может ухудшить или подавить окраску.

Литература

1. Clark, G., Staining procedures (1981), 4th ed. Williams & Wilkins.
2. Krafts Woronzoff-Dashkoff, Kristine, Clinics in Laboratory Medicine. Vol 22 (2002).
3. Biological Stains (1977) 9th ed. Ed. By R.D. Lillie; Williams & Wilkins.
4. CLSI Guidelines and Standards, CLSI, Wayne, P.A

03.2020, Rev. 8.0