

MAY – GRÜN WALD GIEMSA

Standardní barvicí metoda

Princip:

Barvení podle Pappenheimovy metody umožňuje stanovit rozpočet (diferenciál) buněk periferní krve a kostní dřeně. Jedná se o kombinaci dvou různých barviv: MAY-GRÜN WALD a GIEMSA. Tato barviva představují neutrální směsi s velmi charakteristickými vlastnostmi. Nemají barvicí schopnost v alkoholovém prostředí, ta se projevuje selektivně až po přidání do vodního roztoku pufru. Pufry vyvolá precipitaci neutrálních barviv.

May-Grünwald barví acidofilní buňky a neutrofilní granulaci leukocytů, zatímco Giemsa barví jak cytoplazmu monocytů a lymfocytů, tak i chromatin jádra.

Manuální technika

Na nátěr naneste 1ml neředěného barviva May-Grünwald	3 min.
Opatrně přidejte 1ml roztoku pufru, smíchejte a snažte se, aby Vám nic nepřeteklo	1 min.
Přebytek barviva na nátěru nechte okapat nebo opláchněte	
Naneste barvivo Giemsa R naředěné roztokem pufru v poměru 1:30	10 min.
Nátěr na sklíčku opláchněte vodou z vodovodu nebo puftrem	10 sec.
Nátěr na sklíčku nechte oschnout	

Poloautomatizovaná a automatizovaná technika

Ponořte do neředěného barviva May-Grünwala	3 min.
Ponořte do roztoku pufru	1 min.
Ponořte do roztoku Giemsa R ředěného 1:20 roztokem pufru	10 min.
Nátěr na sklíčku opláchněte vodou z vodovodu nebo puftrem	10 sec.
Nátěr na sklíčku nechte oschnout	

Výběr barviva Giemsa:

RAL nabízí dva roztoky – Giemsa R a Giemsa L.

Giemsa R je rychle působící barvivo (10 minut). Používá se pro barvení suchých nátěrů a silnějších nátěrů.

Giemsa L je pomalu působící barvivo (20 minut). Používá se pro vlhké nátěry a tkáňové bločky.

Výběr pufru:

Kvalita a reprodukovatelnost barvení je ovlivněna použitím pufru. Výběr pH pufru závisí na zvyklosti laboratoře. Jsou dostupné tři pufrů o hodnotě pH 6.8, 7.0 a 7.2. Baleny jsou po 6 lahvičkách v jednom balení, každá lahvička s obsahem s lyofilizovaného pufru. Z každé lahvičky získáme roztok pufru rozpuštěním v 1 l destilované vody.

Neměla by se používat tekoucí voda, protože může způsobit nepředvídatelné a nejednotné barvicí výsledky.

Výsledné zbarvení jednotlivých buněk:

Jádra/ Chromatin:		±tmavě purpurová
Leukocyty:	Cytoplazma bez RNA	světle-purpurová
	Eozinofilní granula	oranžovo-růžová
	Bazofilní granula	tmavě modrá
	Neutrofilní granula	± sytě fialová
Lymfocyty:	Cytoplazma s RNA	čistá modrá
	Cytoplazma bez RNA	světle modrá
	Azurofilní granula	červená
Monocyty:	Cytoplazma	fialově-modrá
Erytrocyty:		šedě-béžová
Trombocyty:	Chromomera	purpurově-modrá
	Hyalomera	namodralá

Distributor: Diagnostica a.s., Za Tratí 686, Praha 9, Česká republika, tel. 283 109 137, Fax. 283 109 132, e-mail: info@diagnostica.cz

Paraziti krve (malárie):	Jádro	červená
	Cytoplazma	modrá

Bibliografie:

DUHAMEL G., DUHAMEL E., Cytologie hématologique, Les cellules pathologiques I et II, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Biologiste et Praticien et Réactifs RAL, 1984 et 1989 – **Ecole Nationale de Chimie**, Coloration de Pappenheim, Présentation théorique des mécanismes cytochimiques des colorants neutres avec applications techniques détaillées, Journée du technicien biologisme, mars 1980, p. 1-9. – **GENTILHOMME O., TREILLE-RITOUET D., BRYON P-A.**, Cytologie hématologique, Les cellules normales, Coloration au May- Grünwald Giemsa RAL, Réactifs R.A.L, 1989. – **LANGERON M.**, Précis de microscopie, Masson & Cie, 6ème éd., 1942, p.566-585. – **MATHIOT C.**, Cytologie en hematologie, Quelques aspects de la pathologie, Biologiste et Praticien et Réactifs R.A.L, 1979.

Reagencie a jejich balení:

May-Grünwald (eosin-metylenová modř)	kód 320 070	125 ml, 500 ml, 1000 ml, 2500 ml
Giemsa R, roztok pro rychlé barvení	kód 320 310	125 ml, 500 ml, 1000 ml, 2500 ml
Giemsa L, roztok pro pomalé barvení	kód 320 300	125 ml, 1000 ml
Pufř o pH=7.0, prášek	kód 361 600	6 dávek na 6 x 1 litr
Pufř o pH 6.8 prášek	kód 363 568	6 dávek na 6 x 1 litr
Pufř o pH 7.2 prášek	kód 363 572	6 dávek na 6 x 1 litr

Revize: 16.9.2009

Distributor: Diagnostica a.s., Za Tratí 686, Praha 9, Česká republika, tel. 283 109 137, Fax. 283 109 132, e-mail: info@diagnostica.cz