

# MAY-GRUENWALD OTOPINA



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod **Klase A**

## Polikromatska otopina eozina, metilenskog modrila i azurnih boja Za bojenje u hematologiji i citologiji

### UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC3010302HMCA		
EMDN kód	W0103010302		
REF	Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj
MG-OT-100		100 mL	03858888822316
MG-OT-110		10x100 mL	03858888829001
MG-OT-500		500 mL	03858888822323
MG-OT-1L		1000 mL	03858888822330
MG-OT-2.5L		2500 mL	03858890001181



#### Namjena proizvoda i načelo testiranja

Polikromatske Romanowsky boje standardno se koriste u hematologiji za bojenje krvnih razmaza i koštane srži. Razne vrste Romanowsky boja (Giemsa, May-Gruenwald, Leishman, Wright, Jenner) sadrže različite omjere metilenskog modrila kao kationske komponente (i njemu srodnih tiazinskih boja poput Azura B) i Eozina Y kao anionske komponente. Međudjelovanjem kationske i anionske komponente stvara se poznati Romanowsky efekt koji se ne može postići ukoliko se svaka komponenta koristi zasebno, a iskazuje se stvaranjem ljubičaste boje. Intenzitet obojenja ovisi o sadržaju Azura B te omjeru Azura B i Eozina Y dok na sam rezultat bojenja utječe nekoliko čimbenika; pH vrijednost radne otopine te puferske otopine, način fiksacije te vrijeme izlaganja boji. BioGnostova May-Gruenwald otopina koristi se za bojenje koštane srži i razmaza periferne krvi; za bojenje limfocita, monocita, granulocita (neutrofila, eozinofila i bazofila), trombocita i eritrocita. U citologiji se pomoću May-Gruenwald otopine boje aspirirati citodijagnostičke punkcije, stanice iz izljeva i sekreta. Jedna od najpoznatijih metoda u kojoj se May-Gruenwald otopina koristi jest u kombinaciji s Giemsa otopinom u May-Gruenwald Giemsa, odnosno Pappenheim metodi.

#### Opis proizvoda

- MAY-GRUENWALD OTOPINA** - Otopina eozina i metilenskog modrila u metanolu uz dodatak stabilizatora.

#### Ostali reagensi i materijali koji mogu biti upotrijebljeni u metodi

- Polikromatski Romanowsky reagensi poput BioGnostove Giemsa otopine
- VitroGnost predmetna i pokrovna stakla za primjenu u histopatologiji i citologiji
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade
- BioGnostove Puferske tablete pH 6,8 ili 7,2
- Reagensi za fiksaciju poput BioGnostovog Histanola M

#### Priprema otopina

##### Puferska otopina pH 6,8

- Otopiti 1 pufersku tabletu pH 6,8 u 1 litri destilirane vode uz miješanje.

Napomena: U postupku bojenja moguće je koristiti i pufersku otopinu pH vrijednosti 7,2 ili kombinaciju puferskih otopina pH 6,8 i 7,2. Rezultati postupka bojenja mogu se razlikovati u pomaku prema crvenom ili plavom spektru boje.

##### Razrijeđena otopina May-Gruenwald

- Pomiješati 30 mL May-Gruenwald otopine s 150 mL destilirane/demineralizirane vode i 20 mL puferske otopine.

##### Radna otopina Giemse za standardnu metodu bojenja

- Dodati 10 mL otopine Giemse u 190 mL puferske otopine pH 6,8, dobro promiješati, pustiti da odstoji 10 minuta. Po potrebi filtrirati.

##### Radna otopina Giemse za perioperativnu metodu bojenja

- Dodati 50 mL otopine Giemse u 50 mL puferske otopine pH 6,8, dobro promiješati, pustiti da odstoji 10 minuta. Po potrebi filtrirati.

#### NAPOMENA

Paziti da dio preparata s uzorkom u svakom koraku bude potpuno uronjen u odgovarajuću otopinu ili reagens.

#### A1) Postupak bojenja hematoloških razmaza i citoloških uzoraka May-Gruenwald otopinom uranjanjem

1.	Osušiti (fiksirati) na zraku krvni razmaz ili citološki uzorak na stakalcu	
2.	Uroniti fiksirani preparat u May-Gruenwald otopinu	3 minute
3.	Uroniti preparat u razrijeđenu May-Gruenwald otopinu	6 minuta
4.	Isprati preparat u puferskoj otopini pH 6,8 kroz dvije izmjene	2 izmjene od 1 minute
5.	Osušiti preparat na zraku	

#### A2) Postupak bojenja hematoloških razmaza i citoloških uzoraka May-Gruenwald otopinom na stalku

1.	Osušiti (fiksirati) na zraku krvni razmaz ili citološki uzorak na stakalcu	
2.	Nanijeti 1 mL May-Gruenwald otopine na fiksirani preparat	3 minute
3.	Bez izlivanja May-Gruenwald otopine, dodati 1 mL puferske otopine pH 6,8 na preparat i lagano pomiješati. Pustiti da djeluje	6 minuta
4.	Isprati preparat puferskom otopinom pH 6,8	
5.	Osušiti preparat na zraku.	

#### Rezultat (pH 6,8)

Jezgra – ružičasto ljubičasta boja

Plazma limfocita – plava boja

Plazma monocita – sivo plava boja

Neutrofilna granula – svijetlo ljubičasta boja

Eozinofilna granula – crveno do crveno smeđa boja

Bazofilna granula – tamno ljubičasta do crna boja

Trombociti – ljubičasta boja

Eritrociti – crvena boja

#### A3) Postupak bojenja krvnog razmaza May-Gruenwald Giemsa (Pappenheim) standardnom metodom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Nanijeti May-Gruenwald otopinu na osušeni razmaz	3-5 minuta
3.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8.	
4.	Nanijeti radnu Giemsa otopinu na razmaz	15-20 minuta

5.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	
	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferске otopine kako bi se temeljito uklonili ostaci boje te postigli jasnu i izoštrenu sliku obojenih struktura. Isprati otopinu nakon 10-30 sekundi	
6.	Osušiti preparat na zraku	

#### A4) Postupak bojenja krvnog razmaza May-Gruenwald Giemsa (Pappenheim) perioperativnom metodom

1.	Osušiti krvni razmaz na zraku	
2.	Nanijeti May-Gruenwald otopinu na osušeni razmaz	1-2 minuta
3.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	
4.	Nanijeti radnu Giemsa otopinu na razmaz	5 minuta
5.	Isprati nakratko razmaz u puferskoj otopini pH 6,8	
	Napomena: Ukoliko je potrebno, na preparatu ostaviti manji volumen puferске otopine kako bi se temeljito uklonili ostaci boje te postigli jasnu i izoštrenu sliku obojenih struktura. Isprati otopinu nakon 10-30 sekundi	
6.	Osušiti preparat na zraku	

#### Rezultat (pH 6,8)

Jezgra – ljubičasta boja  
 Plazma limfocita – plava boja  
 Plazma monocita – sivo plava boja  
 Neutrofilna granula – svijetlo ljubičasta boja  
 Eozinofilna granula – crvena do tamno ljubičasta boja  
 Bazofilna granula – tamno ljubičasta do crna boja  
 Trombociti – ljubičasta boja  
 Eritrociti – crvenkasta boja

#### Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od opisanog postupka bojenja u ovoj Uputi za rukovanje mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

#### Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, histološku obradu uzoraka i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole.

Ukoliko tijekom upotrebe ovog proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

#### Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Reagensi korišteni u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda, uputi za rukovanje te u sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.


#### Skladištenje, transport, stabilnost i rok valjanosti

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.












#### Literatura

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. Garcia, L. S. (2001): Diagnostic Medical Parasitology, 4th ed., Washington, D.C., ASM Press.
4. Giemsa, G. (1922): Das Wesen der Giemsa-Färbung, Zentralb f Bakt; 89, str. 99-106.
5. Kiernan, J.A. (2008): Histological and histochemical methods: Theory and Practice, 4th ed., Bloxham, Scion Publishing Ltd.
6. May, R. et Grünwald L. (1909): Über die Färbung von Feuchtpreparaten mit meiner Azur-Eosine methode, Deutsche med Xschr, 35, str. 1751-1752.

#### Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:

	H225	Lako zapaljiva tekućina i para.
	H301 + H311 + H331	Otrovno ako se proguta, u dodiru s kožom ili ako se udiše.
	H370	Uzrokuje oštećenje organa (očiju).
	P210	Čuvati odvojeno od topline, vrućih površina, iskri, otvorenih plamena i ostalih izvora paljenja. Ne pušiti.
	P233	Čuvati u dobro zatvorenom spremniku.
	P280	Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
	P301 + P310	AKO SE PROGUTA: odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/liječnika.
	P302 + P352	U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom vode.
	P304 + P340	AKO SE UDIŠE: premjestiti osobu na svjež zrak i postaviti ju u položaj koji olakšava disanje.
	P308 + P311	U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA/liječnika.

MG-IFU\_HRV19, 09.04.2025. LO/IŠP

 Proizvođač	 Broj serije	 Pročitati priloženu uputu	 Europska sukladnost
 Datum proizvodnje	 Kataloški broj	 Oprez	 Jedinstvena identifikacija proizvoda
 Rok uporabe	 Temperaturno ograničenje	 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	

 BioGnost d.o.o.  
 Međugorska 59, 10040 Zagreb, Hrvatska, www.blognost.com

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
19	1. Revidirano u skladu s Uredbom (EU) 2017/746 – IVDR 2. Proširenje protokola bojenja A1 i A2 na citološke uzorke	09.04.2025.