

# 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 pufrem                          | 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 pufrem | 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, Za Tratí 686, Praha 9, ČR  
Tel.+420 266 315 909, mobil +420 607 905 298, Fax +420 266 316 000, E-mail:[info@diagnostica.cz](mailto:info@diagnostica.cz)  
Web [www.diagnostica.cz](http://www.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, Za Tratí 686, Praha 9, ČR  
Tel.+420 266 315 909, mobil +420 607 905 298, Fax +420 266 316 000, E-mail: [info@diagnostica.cz](mailto:info@diagnostica.cz)  
Web [www.diagnostica.cz](http://www.diagnostica.cz)