

May Grünwald mod.

Tinción panóptica hematológica May Grünwald-Giemsa

CÓDIGOS:

Código 5301: Giemsa 1L
Código 5321: Giemsa 250 mL.
Código 5302: May Grünwald 1L
Código 5322: May Grünwald 250 mL.

Fórmula teórica:

Solución de Trabajo May Grünwald:	May Grünwald Stain	2.5 gr
	Metanol	1000 mL
Solución Stock Giemsa:	Giemsa Stain	7.6 gr
	Glicerol	500 mL
	Metanol	500 mL
Solución Trabajo Giemsa:	Stock Giemsa	20 mL
	Tampón fosfato 0.067M	100ml
	Agua destilada	900 mL

Descripción y usos:

La evolución histórica de los colorantes citológicos se ha dirigido a la obtención de un colorante policrómico de Azul de Metileno y sus formas oxidadas. Desde la mezcla del Azul de Metileno policrómico y Carbonato Potásico de Nocht (1898), a las primeras precipitaciones y redisoluciones de la mezcla de Nocht con Metanol según propuestas de Jenner(1899) o May Grünwald (1902), se ha llegado actualmente a soluciones muy estables y con óptimos resultados. Leishman (1901) propone una preparación del colorante en polvo similar a Nocht, disolviendo con Metanol una mezcla de Azul de Metileno policrómico y Eosina (los dos componentes presentes en el precipitado disuelto por Nocht y Jenner); Wrigth, modifica la disolución de Leishman y la realiza cerca de ebullición durante 1 hora en lugar de 12 horas a 65 °C como lo hace Leishman. Las últimas formulaciones, de Giemsa (1903), propone una formulación con Azul de Metileno y Eosina Y (ésta, con un máximo de absorción a 650 mμ al igual que el compuesto oxidado de Nocht y predecesores), estabilizada con Glicerol, que llegaría, con ligeras mezclas y modificaciones a las formulaciones actuales de Giemsa.

De las múltiples tinciones hematológicas para observación microscópica de las extensiones de

sangre periférica, esta modalidad es la que obtiene resultados mejores; combina formulaciones antiguas y modernas de Azul de Metileno y Eosina, para un mayor rendimiento en la obtención de contrastes y gamas cromáticas. La cromatina nuclear ácida se tiñe en violeta, los protoplasmas basófilos en distintos matices de azul y las estructuras neutras en color rosa débil. Ciertas granulaciones se colorean en rojo brillante; la de los eosinófilos, en rojo-naranja y la de los basófilos, en violeta oscuro. La coloración combinada, puede resultar en ciertos tonos de gris. Se utiliza no sólo para las extensiones de sangre, sino también para cualquier estudio citológico de los órganos hematopoyéticos, tumores y en general todos los productos frescos obtenidos por punción, puede emplearse esta coloración con excelentes resultados.

Los hematíes se tiñen de un color rosa pálido, con una zona central más clara. La policromasia se advierte por una tendencia al color azulado, y la mezcla de azul y rosa proporciona unos tonos grisáceos característicos. El punteado basófilo se distingue bien por su color azul, si bien a veces puede tomar tonos rojizos. Los restos nucleares, tanto las formaciones corpusculares como las anulares, se tiñe de rojo intenso o violeta. La cromatina nuclear se tiñe en violeta oscuro, dejando dibujadas perfectamente las estructuras cromáticas, pudiendo darse cuenta de su disposición y densidad, pues esta última varía con la intensidad de color. Puede verse muy bien el grado de madurez de una célula teniendo en cuenta esta estructura cromática. Los nucleolos de las células jóvenes se presentan de un color violeta o azul más claro; cuando en los nucleolos se observan zonas completamente claras, no se trata de nucleolos, los cuales siempre presentan una cierta estructura. Esta coloración es muy apropiada para los elementos neoplásicos, cuyos grandes nucleolos que indican inmadurez, estructuras cromáticas laxas, atipias, mitosis,... pueden estudiarse con gran detalle.

Los protoplasmas aparecen de color rosa pálido (neutrófilos) o bien azules. Este color azul puede variar desde tonos muy oscuros de las células plasmáticas y de los eritroblastos basófilos, hasta los claros tonos azul celeste de los linfocitos de gran protoplasma; se pueden reconocer siempre si se trata de una estructura protoplasmática hialina, granular o vacuolizar. En el protoplasma puede haber una mezcla de estructuras basófilas y neutrófilas, dando unos tonos grises, como pueden verse en los eritroblastos policromatófilos y en algunas células reticulares.

En la coloración de las granulaciones es en donde este método da el máximo de rendimiento y distinción. La granulación neutrófila madura es de color encarnado; la inmadura de los mielocitos neutrófilos es de color púrpura. La granulación de los eosinófilos es rojo-anaranjada, a veces casi amarillenta y cuando la célula es joven, puede ser de tonos grises o azul sucio. La de los basófilos es violeta oscura. Los linfocitos tienen pequeños gránulos azurófilos de color rojo vivo, de tonalidad parecida a la de los monocitos. Las plaquetas presentan una porción periférica azulada y gránulos centrales rojos. Las vacuolizaciones se presentan como zonas bien redondeadas privadas de toda coloración. las substancias en macrofagia, pueden tomar diversas coloraciones o bien tenerlas por sí mismas, si contienen pigmentos. En el caso de parásitos de la sangre y de los órganos hematopoyéticos, se consiguen preparaciones de muy alta calidad, con coloraciones específicas para las estructuras endocelulares, como se daría en el caso de *Plasmodium*, *Leishmania*, *Trypanosoma* y otros parásitos hemáticos.

Utilización:

Los reactivos del Kit de Tinción ya vienen preparados para su uso, no hace falta diluciones o preparaciones previas. Preparar la solución de trabajo en el momento previo a su uso.

- 1 Cubrir toda la superficie de la extensión con May-Grünwald para fijar y teñir
- 2 Dejar actuar 2 minutos
- 3 Añadir igual cantidad de agua destilada mezclándola con el colorante
- 4 Dejar actuar 1 minuto
- 5 Escurrir los restos de colorante y lavar la extensión con agua destilada
- 6 Añadir el colorante de Giemsa recién preparado
- 7 Dejar actuar 20 minutos
- 8 Escurrir el colorante y lavar la extensión con agua corriente
- 9 Dejar secar al aire

Precauciones y almacenamiento:

Debe tenerse precaución en disponer de solución reciente en las cubetas de tinción, evitando excesiva contaminación cruzada de colorantes de una cubeta a otra, y procurando descartar aquellas cubetas que presenten precipitación o excesiva evaporación de la solución. Los portaobjetos con excesivos tiempos de tinción aplicados no son útiles para un buen recuento y clasificación y observación de la morfología de los componentes celulares sanguíneos. Los frascos con las soluciones preparadas pueden conservarse a Temperatura ambiente, preferiblemente al abrigo de la luz. Rechazar los frascos que presentes precipitaciones excesivas o gradientes o fases en su composición. El número de lote y la fecha de caducidad vienen indicados en la etiqueta de cada frasco.

Control de Calidad:

Se realiza por tinción sobre portaobjetos de una extensión de sangre humana, fijada y conservada convenientemente, para cada uno de los lotes producidos y para cada uno de los colorantes, May Grünwald y Giemsa.

Referencias:

Giemsas, G. Eine Vereinfachung und Vervollkommung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin Fäbermethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtscher Chromatinfärbung. Zentralbl.Bakteriol.(Orig)1904. 37:308-311.

Jenner,L. A new preparation for rapidly fixing and staining blood. Lancet. 1899, 1:370.

Leishman,W.B. A simple and rapid method of producing Romanowsky staining in malarial and other blood films. Br.Med. J. 1901. 2: 757-758.

May,R. and Grünwald,L. Über Blutfärbungen. Zentralbl.Inner.Med. 1902. 11: 265-270.

Nocht. Zur Färbung der Malariaparasiten. Zentralbl.Bakteriol. (Orig.) 24: 839-843. 1898. First to polychromize methylene blue intentionally in preparing blood stains)

Pappenheim,A. Panoptische Universulfärbung für Blutpräparate. Mediz.Klin.(Wien). 4: 1244 (1908).