

(11) Patent numeris: **4244**

(51) Int. Cl.⁶: **C09B 67/10**
G01N 33/48

(21) Paraiškos numeris: **96-031**

(22) Paraiškos padavimo data: **1996 03 20**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1997 09 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1997 11 25**

(72) Išradėjas:

Vidas Juras, LT
Alvydas Pavilionis, LT

(73) Patent savininkas:

Vidas Juras, Jurbarko g. 11-1, 4400 Raseiniai, LT

(54) Pavadinimas:

Hematologiniai dažai ir jų gaminimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas apima dažų mišinį, kuris gali būti panaudotas mikrobiologiniuose ir hematologiniuose tyrimuose medicininės diagnostikos tikslais.

Pareiškiami hematologiniai dažai susideda iš metileno mėlio, azūro I ir eozino, kurių santykis yra 1 : (0,03-0,05) : 1 ir jų tirpiklio, susidedančio iš N,N- dimetilformamido ir distiliuoto vandens mišinio, santykiu 1:9.

Išradime taip pat pateiktas ir dažų mišinio paruošimo būdas.

Pareiškiamų hematologinių dažų ir jų paruošimo būdo privalumai yra tie, kad koncentruoti dažai nesudaro nuosėdų, išlieka ilgą laiką stabilūs, sutrumpina dažymo trukmę, skirtingai nudažo mikroorganizmus ir neutrofilų granules bei branduolius, dažytuose tepinėliuose nesudaro nuosėdų.

Išradimas priskirtinas medicininei diagnostikai ir gali būti panaudotas mikrobiologiniuose, hematologiniuose tyrimuose, pvz. tiriant fagocitozę, skaičiuojant kraujo formulę, atliekant LE (*lupus erythematosus*) testą, likvoro ir kitų biologinių skysčių, audinių citologinį tyrimą.

Yra žinomi dažai kraujo tepinėliams dažyti, susidedantys iš eozino, metileno mėlio, azūro I, distiliuoto vandens ir buferinio tirpalo. Dažai gaminami tokiu būdu: 1. Paruošiami dažų tirpalai: eozino (1 g ištirpinamas 1 litre distiliuoto vandens) ir azūro I (1 g ištirpinamas 1 l distiliuoto vandens). 2. Prieš dažymą paruošiamas darbinis dažų tirpalas, kurį sudaro 25 ml azūro II tirpalo, 20 ml eozino tirpalo ir 55 ml buferinio tirpalo (žr. Liubina A. J., Iljičiova L. P., Katasonova T. V., Petrosova S. A., Kliničeskije laboratornyje issledovanija. M: Medicina, 1984, p. 150 (rus.)).

Šio gaminimo būdo neigiamosios savybės susijusios su ilgu dažų tirpinimu (apie 2 savaites), nuosėdų susidarymu, nepastoviu eozino ir azūro II tirpalų santykiu, kuris priklauso nuo dažų tirpalų kokybės ir distiliuoto vandens pH.

Taip pat žinomi Romanovskio-Gimzos dažai, susidedantys iš azūro II, eozino, metanolio arba etanolio ir glicerolio. Jie ruošiami ištirpinant 3 g azūro II (susidaro lygiomis dalimis metileno mėlis ir azūras I) ir 0,8 g eozino ištirpinant 250 ml metanolio arba 96 % etanolio. Tirpalas laikomas tamsioje vietoje kelias paras dažnai sukratant, kad geriau ištirptų dažai. Dažams ištirpus, į gautą tirpalą įpilama 250 ml chemiškai švaraus glicerolio ir vėl laikoma 3-5 paras. Po to koncentruotų dažų tirpalas filtruojamas ir prieš dažymą skiedžiamas, atsižvelgiant į jų titrą (žiūr. ten pat, p. 149-150, prototipas).

Gaminant šiuo būdu ir tokios sudėties dažus, jų paruošimas yra ilgas ir sudėtingas, dažnai susidaro nuosėdos, dėl ko reikia koncentruotą dažų tirpalą filtruoti. Dažant šiais dažais, gaunasi ilga dažymo trukmė (25-30 min.). Leukocitų fagocituotos bakterijos nusidažo raudonai-violetine spalva, kaip ir branduoliai, dėl ko nematyti ant branduolių esančių bakterijų.

Išradimo tikslas yra supaprastinti dažų gamybos technologiją, stabilizuoti paruoštų dažų tirpalus, pagerinti jų kokybę.

Nurodytas tikslas pasiekiamas tuo, kad hematologiniuose dažuose, susidedančiuose iš metileno mėlio, azūro I, eozino ir jų tirpiklių, esant santykiui tarp metileno mėlio, azūro I ir eozino - 1: (0,030-0,05): 1, o jų tirpiklis - N,N-dimetilformamido ir distiliuoto vandens mišinys, o taip pat tuo, kad hematologinių dažų gaminimo būdas, supilant ir sumaišant metileno mėlį ir azūrą I bei eoziną minėtame tirpiklyje, susidaro iš dviejų dažų tirpalų, vieno iš jų - sudrėkinto keliais distiliuoto vandens lašais metileno mėlio ir azūro I tirpinimo distiliuotame vandenyje ir N,N-dimetilformamide ir antro - sudrėkinto keliais lašais distiliuoto vandens lašais eozino tirpinimo distiliuotame vandenyje, pagaminimo, jų supylimo į stiklinį indą ir sumaišymo.

Išradimas iliustruotas paveikslais, kuriuose pateikti fagocitozės tyrimo rezultatai, nudažius kraujo tepinėlius prototipo, t. y. Romanovskio-Gimzos dažais (1 pav.) ir siūlomais dažais (2 pav.).

Siūlomų hematologinių dažų sudėtį sudaro metileno mėlis, azūras I ir eozinas santykiu 1 : (0,03-0,05) : 1, jų tirpiklis yra N,N-dimetilformamidas ir distiliuotas vanduo.

Gaminimo pavyzdys.

0,133 g metileno mėlio ir 0,33 g azūro I supilami į 1-ąjį stiklinį indą ir sudrėkinami keliais distiliuoto vandens lašais. Į sudrėkintus dažus įpilama 5 ml distiliuoto vandens ir 5 ml N,N-dimetilformamido. Po to, maišant dažus stikline lazdele, lėtai supilama 40 ml distiliuoto vandens. 0,133 g eozino supilama į 2-ąjį stiklinį indą ir sudrėkinama keliais distiliuoto vandens lašais. Maišant stikline lazdele, į indą lėtai supilama 45 ml distiliuoto vandens. Abu dažų tirpalai supilami į vieną stiklinį indą ir sumaišomi. Po to pirmasis indas dar praplaunamas 5 ml N,N-dimetilformamido ir jo turinys supilamas į indą su dažais. Gaunamas koncentruotų dažų tirpalas.

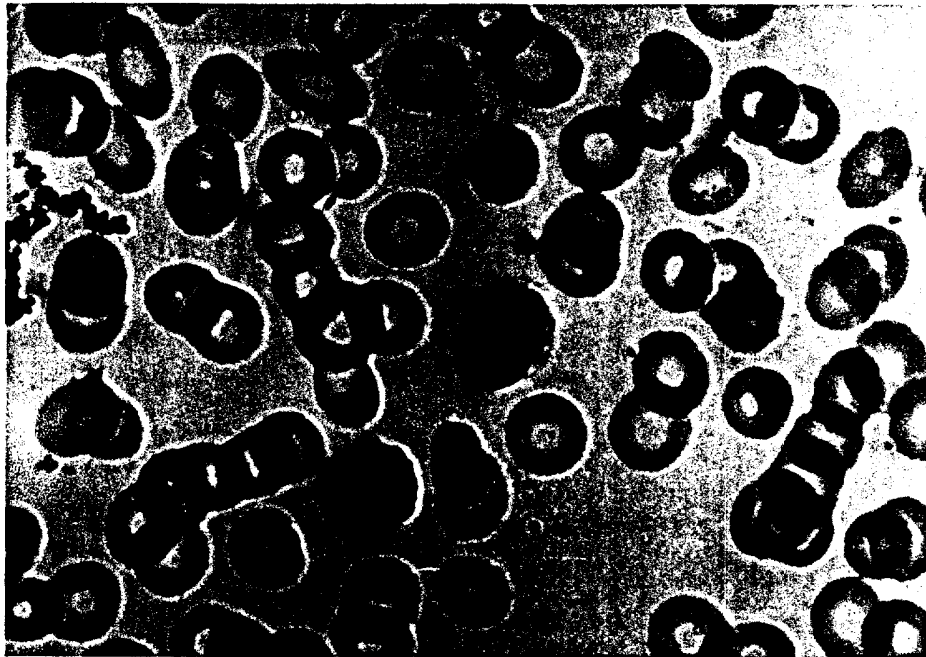
Paruošti dažai panaudoti fagocitozės tyrimui: paruošti kraujo tepinėliai fiksuojami 25-30 min. 96 % etanolio ir eterio mišiniu (santykiu 1:1) ir dažomi 14 ± 3 min. praskiestais koncentruotais dažais santykiu 1:1. Dažymo rezultatai pateikti 2 pav.

Siūlomų hematologinių dažų ir jų gamybos būdo privalumai, lyginant su prototipu:

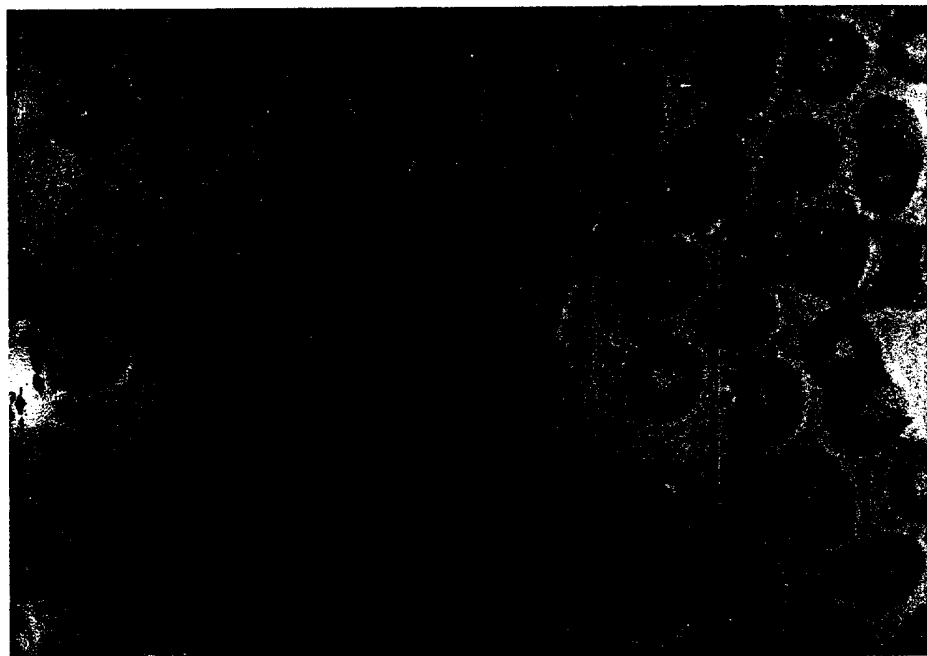
1. Pagaminti koncentruoti dažai nesudaro nuosėdų, išlieka stabilūs iki 48 mėnesių.
2. Sutrumpėja dažymo trukmė.
3. Dažymui paruošti, t. y. praskiesti distiliuotu vandeniu koncentruoti dažai santykiu 1:1 išlieka stabilūs ir kokybiški, laikant juos tamsaus stiklo inde ir kambario temperatūroje iki 6 mėnesių.
4. Skirtingai nusidažo mikroorganizmai ir neutrofilų granulės bei branduoliai, todėl bakterijos gerai matomos branduolio fone.
5. Dažytuose tepinėliuose dažai nesudaro nuosėdų.

APIBRĖŽTIS

1. Hematologiniai dažai, kurių sudėtyje yra metileno mėlis, azūras I, eozinas ir jų tirpiklis, b e s i s k i r i a n t y s tuo, kad metileno mėlio, azūro I ir eozino santykis yra $1 : (0,03-0,05) : 1$, o jų tirpiklis - N,N-dimetilformamido ir distiliuoto vandens mišinys.
2. Hematologiniai dažai pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t y s tuo, kad N,N-dimetilformamido ir distiliuoto vandens santykis yra $1 : 9$.
3. Hematologinių dažų gaminimo būdas, supilant ir sumaišant metileno mėlį ir azūrą I bei eoziną tirpiklyje, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad gamina du dažų tirpalus, vieną iš jų - metileno mėlį ir azūrą I sudrėkina keliais distiliuoto vandens lašais, tirpina distiliuotame vandenyje ir N,N-dimetilformamide, antrą - eoziną sudrėkina keliais distiliuoto vandens lašais ir tirpina distiliuotame vandenyje, po to abu tirpalus supila į vieną (stiklinį) indą ir sumaišo.



1 pav. Fagocitozės tyrimas. Kraujo tepinėlis dažytas prototipo, t.y. Romanovskio - Gimzos dažais.



2 pav. Fagocitozės tyrimas. Kraujo tepinėlis dažytas siūlomais dažais.