

## Příprava a barvení krevního nátěru

K rozpoznání jednotlivých druhů krvinek je třeba zhotovit technicky dokonalý krevní nátěr. Ke zhotovení nátěru se používá kapilární nebo žilní krev a provádí se na podložních sklech.

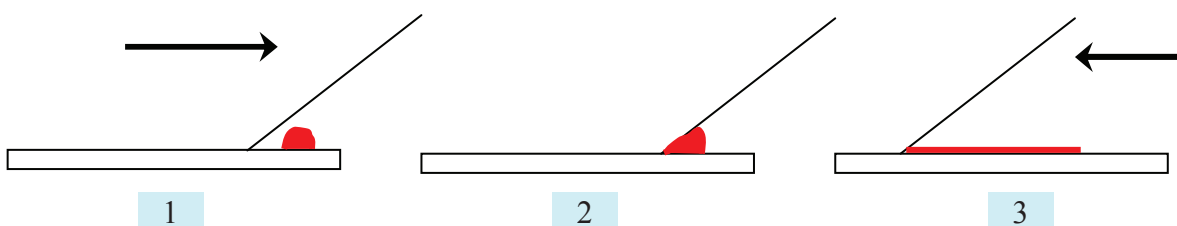
Ke krevním nátěrům na podložním sklíčku se používají chemicky čistá a dokonale odmaštěná podložní sklíčka s neobroušenými hranami. (K odmaštění se nejčastěji používá ethanol nebo izopropylalkohol.) Sklíčka se osuší na vzduchu, při manipulaci se dotýkáme zásadně hran, nikoliv ploch sklíček.

### 1.) Příprava nátěru

*Pomůcky:* venózní krev, odmaštěná podložní sklíčka

*Provedení:*

Malou kapku krve přeneseme na jeden konec podložního sklíčka (max. 20  $\mu$ l). Druhé sklíčko, kterým provádíme roztěr, přiložíme před kapku krve pod úhlem 30° - 40°. Posunujeme sklíčko ke kapce, až se jí dotkneme a krev se kapilaritou rozlije podél hrany sklíčka. Rovnoměrným pohybem rozetřeme kapku krve směrem k opačnému konci podložního sklíčka. Zhotovený nátěr musí být rovnoměrný, homogenní a přiměřeně tenký. Nátěr musí mít dlouhé okraje rovné a na konci přecházet do "ztracena", alespoň 1 - 2 cm před koncem sklíčka, přičemž se obvykle vytvoří několik cípů. Hotový nátěr se nechá na vzduchu dobře zaschnout.



### 2.) Barvení krevního nátěru

Po zaschnutí se nátěry barví tzv. **Papenheimovou metodou panoptického barvení** roztokem May-Grünwalda a následně roztokem Giemsy-Romanovského.

*Pomůcky:* krevní nátěr, May-Grünwaldovo barvivo, barvivo Giemsy-Romanovského, destilovaná voda, kyvety, pipety.

*Poznámka:*

*May-Grünwaldovo barvivo*

- eosin-methylenová modř (1 g)
- methanol (100 ml), glycerol (50 ml)

*Giemsy-Romanovského barvivo*

- azureosin II
- azur II, glycerol, methanol

*Provedení:*

Krevní nátěr vložíme na 3 minuty do kyvety s roztokem barviva May-Grünwald (fixace preparátu methanolem a barvení), poté opláchneme destilovanou vodou a necháme 1 minutu oschnout (probíhá vlastní barvení krvinek). Potom vložíme nátěr do kyvety se zředěným roztokem barviva Giemsy-Romanovského a necháme působit 15 - 20 minut (opět probíhá barvení). Preparát opláchneme deionizovanou vodou, necháme zaschnout a mikroskopujeme (zvětšení 1000x).

