

POUŽITÍ

Roztok Wright-Giemsa je určen k barvení krevních filmů a filmů kostní dřevě. Roztoky jsou určeny k použití v "diagnostice in vitro"

Wright-Giemsovo barvivo je modifikované barvivo Romanovského a používá se k diferenčnímu barvení buněčných částic krve. Při barvení krevních filmů popsáním postupem se jádra a cytoplazma bílých krvinek zabarvují do modra až růžova. Kombinace purifikovaných eozinových a thiazinových barviv v produktu eliminuje nekonzistentnost barvení a poskytují reprodukovatelnost chromogenické odezvy jednotlivých šarží.

REAGENCIE

WRIGHT-GIEMSA STAIN, MODIFIED

Wright-Giemsovo barvivo, modifikováno, 0,4 % w/v, pufrováno při pH 6,8, v methanolu.

POTŘEBNÉ SPECIÁLNÍ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY: FOSFÁTOVÝ PUFR, KATALOGOVÉ Č. P3288

Směs fosforečnanu sodného a fosforečnanu draselného, 0,0083 M/L, pH 7,2

METHANOL, Acetone Free, katalogové č. M1775

Mikroskopická / sklíčka / Krycí sklíčka

ULOŽENÍ A STABILITA:

Skladujte Wright-Giemsa roztoky při pokojové teplotě (18–26 °C). Štítek reagensie uvádí datum použitelnosti.

Skladujte fosfátový pufr při pokojové teplotě (18–26 °C). Skladujte pracovní roztok fosfátového pufru při 2–8 °C.

Zhoršení: Zlikvidujte barvicí roztok Wright-Giemsa, pokud se objeví sraženina, nebo když se v červených krvinkách objeví vodné artefakty. Zlikvidujte pracovní roztok fosfátového pufru, jestliže je zakalen nebo viditelně bakteriologicky znečištěn.

PŘÍPRAVA:

Wright-Giemsov roztok se dodává předem k okamžitému použití.

Fosfátový pufr (P3288) se připraví zředěním 1 lahvičky pufru v 3,8 litrech deionizované vody. Dobře promíchejte, aby se rozpustil.

Methanol je připraven k okamžitému použití.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

Je třeba dodržovat běžná bezpečnostní opatření při manipulaci s laboratorními reagensii. Odpad likvidujte v souladu se všemi místními, státními a oblastními předpisy. Viz Bezpečnostní list k materiálu, který uvádí aktuální informace o riziku, nebezpečí a bezpečnosti.

US prohlášení o rizicích a bezpečnosti

Wright-Giemsov roztok je HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Toxický při vdechnutí a požití. Dráždí oči a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Zamezte kontaktu s kůží.

Fosfátový pufr. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

Methanol je HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: Možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Dráždí oči a pokožku. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. Přijměte příslušná bezpečnostní opatření proti výbojům statické elektřiny. Zamezte kontaktu s kůží. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

EU Prohlášení o rizicích a bezpečnosti (Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná)

Wright-Giemsov roztok a methanol jsou VYSOCE HOŘLAVÉ a TOXICKÉ. Vysoce hořlavý. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: Možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek). Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice.

Fosfátový pufr. Upozornění: Látka ještě nebyla zcela otestovaná.

Methanol je VYSOCE HOŘLAVÝ a TOXICKÝ. Vysoce hořlavý. Toxický při vdechování, při styku s kůží a při požití. Toxický: Možné riziko velmi vážných ireverzibilních vlivů vdechnutím, v kontaktu s pokožkou a požitím. Nádobu uchovávejte těsně uzavřenou. Udržujte mimo zdrojů zapálení – zákaz kouření. Používejte vhodné ochranné oblečení a rukavice. V případě nehody nebo pokud se necítíte dobře, vyhledejte ihned lékařskou službu (pokud možno, ukažte tento štítek).

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103USA 314-771-5765

Technické služby: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-3122
nebo e-mailujte na clintech@sial.com

Objednávky: 800-325-0250 nebo volejte na 314-771-5750

www.sigma-aldrich.com

POSTUP

ODBĚR VZORKŮ:

Doporučuje se provádět odběr vzorků v souladu s dokumentem M29-A2 směrnice NCCLS. Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout úplné zajištění, že krevní vzorky nebo tkáň nebudou přenášet infekci. Proto všechny krevní deriváty nebo tkáňové vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční.

Měly by se používat filmy celé krve, filmy kostní dřevě nebo vzorky antikoagulované v EDTA. Tenké filmy (např. kostní dřevě) obvykle vyžadují delší časy barvení.

POZNÁMKY:

1. Krycí skříčka dosažení větších buněčných detailů lze prodloužit čas barvení. Barva (tóny modré nebo červené) se bude lišit při zvýšení nebo snížení času působení v deionizované vodě.
2. Rychlé (30 sekund) barvení se nedoporučuje pro filmy s kostní dřeví. Uspokojivé výsledky s těmito preparáty se dosahují barvením po dobu 1–3 minuty a 2–10 minuty v deionizované vodě.
3. Pro hromadné barvení se doporučují stojany na skříčka a nádoby Tissue-Tek® výrobce Miles Scientific, protože tento systém umožňuje umístit skříčka do vertikální polohy.
4. Bavenost může být při zvýšení nebo snížení času působení v deionizované vodě různá. Kostní dřevě je třeba barvit po dobu nejméně 3 minut a pufrovat po dobu 3–10 minut.
5. Postup barvení popsáný v tomto letáku poskytoval v naší laboratoři uspokojivé výsledky. Individuálními preferencím lze vyhovět úpravou těchto časů.
6. Doporučené pH deionizované vody pro tento postup je mezi 6,8 až 7,2. Pokud je deionizovaná voda kyselější než pH 6,8, doporučuje se použít fosfátový pufr.
7. V případě, že skříčka nelze barvit okamžitě, mohou být skříčka fixována v methanolu po dobu 1 minuty a potom usušena. Barvěte co nejdříve.
8. Do každého cyklu musí být zařazena skříčka s pozitivní kontrolou.
9. Údaje získané z tohoto postupu slouží pouze jako diagnostická pomůcka a měly by se prověřit ve spojení s jinými klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

POSTUP:

I. Metoda ponořování (rychlá)

1. Vložte asi 50 ml Wright-Giemsova barviva do nádoby Coplin.
2. Naplňte další nádobu Coplin vodou nebo fosfátovým pufrém.
3. Vložte dobře usušené krevní filmy, drážkou DOLŮ, do Wright-Giemsova barviva na asi 30 sekund. POZNÁMKA: Rychlé ponoření na 5–10 sekund sníží tvorbu vodných artefaktů na filmech, které nebyly řádně usušeny.
4. Vyjměte skříčka z barvicí lázně a vložte do deionizované vody nebo fosfátového pufru, pH 6,8–7,2, drážkou DOLŮ, na asi 1–10 minut. NEMÍCHEJTE SKLÍČKA, KDYŽ JSOU V DEIONIZOVANÉ VODĚ.
5. Opláchněte rychle v tekoucí deionizované vodě a před vyhodnocením řádně vysušte na vzduchu.

II. Horizontální metoda barvení

1. Vložte dobře usušené krevní filmy do příslušného stojanu na skříčka.
2. Zalijte skříčka 1–2 ml Wright-Giemsovým barvivem.
3. Po 1 minutě přidejte stejné množství deionizované vody nebo fosfátového pufru, pH 6,8–7,2 a opatrným foukáním na skříčka řádně promíchejte.
4. Po 1–3 minutách řádně opláchněte deionizovanou vodou a usušte na vzduchu.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

Jádra budou zabarvena různými odstíny červené. Cytoplazmatické zabarvení bude vykazovat různé odstíny modré až světle růžové. V cytoplazmě některých buněk se mohou objevit jemné načervenalé až fialové granuly. Basofily vykazují tmavě modro černé granule v cytoplazmě. Eosinofily vykazují oranžové granule v cytoplazmě. Červené krvinky by měly být růžové až oranžové.

Pokud se zjištěné výsledky liší od očekávaných, kontaktujte prosím technické služby společnosti Sigma-Aldrich za účelem konzultace.

REFERENCE

1. Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger, Philadelphia 1993 p101
Sigma-Aldrich, Inc. garantuje, že její produkty se shodují s informacemi obsaženými v této a jiných publikacích Sigma-Aldrich. Kupující musí stanovit vhodnost produktu(ů) pro dané použití. Mohou platit dodatečné podmínky. Viz zadní strana faktury nebo útržek obalu, kde jsou uvedeny dodatky k prodejním podmínkám.

Postup č. WG
Předchozí revize: 2003-09
Revidováno: 2010-06



AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Velká Británie

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
PO. 1120, 89552 Steinheim, Německo 49-7329-970