

TILSIGTET ANVENDELSE

Wright-farvestof er beregnet til farvning af blodfilm eller knoglemarvsfilm. Opløsningerne er til in vitro diagnostisk brug.

Wright-farvestof er et modificeret Romanowsky-farvestof, der er beregnet til differentialfarvning af celleelementer i blod. Når blodfilm behandles, som beskrevet heri, får kerne og cytoplasma i hvide blodlegemer en karakteristisk blå eller lysersed farve. De rensede farvestoffer i ACCUSTAIN-formuleringen af Wright-farvestof eliminerer uensartet farvning og giver reproducerbare kromogene reaktioner fra det ene parti til det andet.

Procedurerne i denne indlægsseddel beskriver, hvordan Wright-farvestof anvendes som manuelt badfarvestof, og hvordan det anvendes i batchfarvemaskiner, såsom Hemastainer fra Geometric Data, Midas II fra EM Diagnostic Systems, Inc. og Fisher Stainmaster fra Fisher Scientific.

REAGENSER

WRIGHT-FARVESTOF, MODIFICERET, katalognr. WS

Wright-farvestof, modificeret, 0,3 % vægt/vol, bufferet ved pH 6,8 i methanol.

SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

FOSFATBUFFER, katalognr. P 3288

En blanding af natriumfosfat og kaliumfosfat, 0,0083 mol/l, pH 7,2.

SKYLLEOPLØSNING 2, katalognr. RS 2

Ethanolopløsning, 18 % af befugtningsmiddel. Indeholder 0,02 % natriumazid som konserveringsmiddel.

METHANOL, UDEN ACETONE, katalognr. M 1775

Mikroskop / Objektglas / Dækglass

OPBEVARING OG STABILITET:

Wright-opløsninger opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C). Udløbsdatoen fremgår af reagensetiketten.

Fosfatbuffer, skylleopløsning 2 og methanol opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C). Brugsopløsning af fosfatbuffer opbevares ved 2–8 °C. Opvarmes inden brug.

FORRINGELSE:

Wright-farvestofopløsninger skal kasseres, hvis der dannes bundfald. Brugsopløsningen af fosfatbuffer skal kasseres, hvis den bliver uklar, eller der er synlig bakterievækst til stede.

KLARGØRING:

Wright-farvestofopløsning leveres klar til brug. Wright-farvestof kan dog fortyndes, hvis det anvendes på et automatiseret instrument. Jf. anvisningen nedenfor.

Fosfatbuffer (P3288) klargøres ved at fortynde 1 hætteglas buffer med 3,8 l deioniseret vand. Blandes godt, så det opløses.

Methanol er klar til brug.

FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatabladet angående opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Amerikanske risiko- og sikkerhedserklæringer

Wright-farvestof er BRANDFARLIGT og GIFTIGT. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. Bær passende beskyttelsesbeklædning og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt).

Skylleopløsning 2 er BRÆNDBAR og SUNDHEDSSKADELIG. Brandfarlig. Farlig ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Brug egnede beskyttelseshandsker. Natriumazid kan reagere med bly og kobber, så der dannes meget følsomme eksplosive forbindelser. Målorganer: nerver og lever.

Fosfatbuffer. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

Methanol er BRANDFARLIGT og GIFTIGT. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Giftig; fare for alvorlig varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene og huden. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. Træf foranstaltninger mod statisk elektricitet. Undgå kontakt med huden. Bær passende beskyttelsesbeklædning og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt).

Risiko- og sikkerhedserklæringer i EU (Advarsel: Stofferne er endnu ikke fuldt ud testet).

Wright-farvestof og methanol er MEGET BRANDFARLIGT og GIFTIGT. Meget brandfarlig. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Giftig; fare for alvorlig varig skade for helbred ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Emballagen skal holdes tæt lukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. Ved ulykkestilfælde eller ildebefindende bør der omgående søges lægehjælp (vis etikken hvis det er muligt). Bær passende beskyttelsesbeklædning og -handsker.

Skylleopløsning 2 er LOKALIRRITERENDE. Brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning og -handsker.

Fosfatbuffer. Advarsel: Stoffet er endnu ikke fuldt ud testet.

PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver behandles som potentielt infektiøse.

Der skal anvendes friske fuldblodsfilm eller friske film af blod antikoaguleret med EDTA. Inden filmene klargøres, skal blodet blandet grundigt ved stuetemperatur (18–26 °C). Filmene skal klargøres i løbet af 1 time efter indsamling af blod. Hvis objektglassene ikke farves samme dag, skal de fikseres i ren methanol og opbevares i en støvfri beholder.

BEMÆRKNINGER:

1. Farvningstiden kan øges for at få mere detaljerede celler. Farven (blå eller røde nuancer) kan varieres ved at afkorte eller forlænge tidsrummet i deioniseret vand.
2. Hurtig (15 sekunders) farvning anbefales ikke til knoglemarv. Der fås tilfredsstillende resultater for disse præparater med 1–3 minutter i farvestof og 2–6 minutter i deioniseret vand.
3. Til batchfarvning anbefales farvestativer og kar f.eks. fra Miles Scientific til Tissue-Tek®, da objektglas kan stilles lodret i dem.
4. Farven kan varieres ved at forlænge og afkorte tidsrummet i deioniseret vand. Knoglemarv skal farves i mindst 90 sekunder og bufferes i 90 sekunder til 3 minutter.
5. De farvningstider, der anvises i ovenstående procedure, har givet tilfredsstillende resultater i vore laboratorier. Disse tidsrum kan justeres efter ønske.
6. Tidsrummene i den manuelle procedure kan også bruges på Hemastainer-instrumentet, forudsat at vippekontakten står i off-positionen.
7. Tidsindstillingen kan varieres efter ønske. (Automatiske procedurer)
8. Skyllend vand skal være deioniseret vand. (Automatiske procedurer)
9. Hvis deioniseret vand ikke har neutral pH, anbefaler vi, at der anvendes fosfatbuffer, pH 7,2, katalognr. P 3288.
10. Der bør inkluderes positive kontrolobjektglas i hver kørsel.
11. De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

PROCEDURE:

I. Dyppet metode (hurtig – manuel)

1. Hæld ca. 50 ml WRIGHT-FARVESTOF i en et passende farvestativ.

BEMÆRK: SKAL HOLDES TÆT LUKKET, NÅR DEN IKKE ER I BRUG. Skal udskiftes, når der fremstår vandartefakter i røde blodlegemer, eller når der konstateres bundfald.

2. Fyld en anden Coplin-skål med deioniseret vand.

3. Anbring blodfilm, der er fuldstændigt tørt, med den tynde del NEDAD i WRIGHT-FARVESTOF i ca. 15 sekunder.

BEMÆRK: Hurtig dykning i 5–10 sekunder kan reducere vandartefakter på film, der ikke er fuldstændigt tørre.

4. Tag objektglassene op af farvestoffet, og anbring dem i deioniseret vand med den tynde del NEDAD i ca. 30 sekunder. OBJEKTGLASSET MÅ IKKE RYSTES, MENS DET ER I DEIONISERET VAND.

5. Skyld det et øjeblik under rindende deioniseret vand, og lad det lufttørre inden evaluering.

II. Vandret farvningsmetode (manuel)

1. Anbring en fuldstændigt tør blodfilm på en passende vugge.

2. Overhæld objektglasset med 1–2 ml WRIGHT-FARVESTOF.

3. Efter 30 sekunder og uden at skylle Wright-farvestoffet fra trin 2 af tilsættes en lige del deioniseret vand, der blandes grundigt ved at puste forsigtigt på objektglasset.

4. Efter 1 minut skylles objektglasset grundigt med deioniseret vand og lufttørres.

Batchfarvning med Hemastainer

1. Stil tidsindstillingen for de enkelte stationer som følger:

Station 1 – 30 sekunder

Station 2 – 2 minutter

Station 3 – 3,5 minutter

Station 4 – 30 sekunder

Station 5 – spring over, og gå til "lufttørring"

2. Stationerne klargøres til farvning på følgende måde:

Station 1 – ren methanol, 500 ml

Station 2 – ACCUSTAIN Wright-farvestof, 350 ml, og 150 ml ren methanol

Station 3 – 500 ml fosfatbuffer, pH 7,2

Station 4 – 3,8 l deioniseret vand og 100 ml fosfatbuffer

Station 5 – skal være tom

3. Drej afbryderkontakten til ON.

4. Stil omstillingskontakten Auto-Manual på MANUAL.

5. Stil kontakten Right/Left (højre/venstre) på LEFT.

6. Stil vippekontakten på ON.

7. Stil pumpekontakten på AUTO.

8. Anbring fuldstændigt lufttørrede blodfilm i kurven.

9. Sæt kurven i holderen, og spænd den fast.

10. Start processen ved at stille omstillingskontakten Auto/Manual på AUTO.

11. Når programmet er færdigt, og objektglassene er fuldstændigt tørre, stilles omstillingskontakten Auto/Manual på MANUAL. Derved går kurven tilbage til startpositionen.

Batchfarvning med Fisher Stainmaster

Indstil programmet på følgende måde:

Programdel	Station	Reagens	Tidsrum (minutter)
1	1	Ren methanol	0,5
2	2	Wright-farvestof, modificeret, katalognr. WS-128	1,5
3	3	Fosfatbuffer, katalognr. P 3288	1,0
4	6	Deioniseret vand	0,3
5	5	Skylleopløsning 2, katalognr. RS 2	0,7
6	4	Deioniseret vand	0,3
7	Tørring	Luft	5,0

Batchfarvning med Midas II

Indstil programmet på følgende måde:

Trin	Bad	Reagens	Tidsrum (sekunder)
1	1	Ren methanol	30
2	2	Wright-farvestof, modificeret, katalognr. WS-128	60-90
3	3	Fosfatbuffer, katalognr. P 3288	60
4	4	Rindende deioniseret vand	10
5	Tørring	Luft	3 minutter eller til objektglas er tørre

Ubrugte bade kan udelades.

RESULTATKARAKTERISTIKA

Kernerne får forskellige lilla nuancer. Cytoplasmaet får forskellige blå til lys lyserøde nuancer. Der kan være fine rødlige til lilla granula i visse celletypers cytoplasma. Basofiler fremstår som mørke blåsorte granula i cytoplasmaet. Eosinofiler fremstår som lyse orangefarvede granula i cytoplasmaet. Røde blodlegemer skal være lyserøde til orangefarvet.¹



Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes angående yderligere hjælp.

HENVISNINGER

1. Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger, Philadelphia 1993 p101

Sigma-Aldrich, Inc. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel angående yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedure nr. WS
Tidligere revision: 2003-09
Revideret: 2010-06

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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103, USA, tlf. +1 314 771 5765
Teknisk service: tlf. +1 314 771 3122
eller e-mail clintech@sial.com
Bestilling: tlf. +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Tyskland, tlf. 49-7329-970