

VERWENDUNGSZWECK

Wright-Giemsa-Lösung wird zum Färben von Blut- oder Knochenmarkfilmen verwendet. Die Lösungen dienen zur „In-vitro-Diagnostik“.

Der Wright-Giemsa-Farbstoff ist ein modifizierter Romanowsky-Farbstoff, der zur unterschiedlichen Färbung zellulärer Elemente im Blut dient. Wenn Blutfilme wie im Verfahren beschrieben gefärbt werden, nehmen die Kerne und das Zytoplasma der weißen Blutzellen eine typische blaue oder rosarote Färbung an. Die Kombination aus gereinigten Eosin- und Thiazin-Farbstoffen im Produkt beseitigt inkonsistente Färbungen und führt zu einer reproduzierbaren chromogenen Reaktion mit verschiedenen Chargen.

REAGENZ

WRIGHT-GIEMSA-FARBSTOFF, MODIFIZIERT

Wright-Giemsa-Farbstoff, modifiziert, 0,4 Gew.%, gepuffert bei pH6,8, in Methanol.

SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

PHOSPHATPUFFER, BESTELL-NR. P 3288

Eine Mischung aus Natriumphosphat und Kaliumphosphat, 0,0083 mol/l, pH7,2.

METHANOL, Azetonfrei, Bestell-Nr.M1775

Mikroskop / Objektträger / Deckgläser

AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Die Wright-Giemsa-Lösungen bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Das Verfallsdatum ist auf dem Reagenzetikett angegeben.

Phosphatpuffer und Methanol bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahren. Die Phosphatpuffer-Arbeitslösung bei 2–8 °C aufbewahren.

Produktverfall: Die Wright-Giemsa-Färbelösung entsorgen, falls sich ein Präzipitat entwickelt oder Wasserartefakte in den roten Zellen erscheinen. Die Phosphatpuffer-Arbeitslösung entsorgen, falls sie sich trübt oder eine bakterielle Besiedlung vorhanden ist.

VORBEREITUNG:

Wright-Giemsa-Färbelösung ist gebrauchsfertig.

Der Phosphatpuffer (P3288) sollte durch Verdünnen von 1 Fläschchen Puffer mit 3,8 Liter entionisiertem Wasser zubereitet werden. Zum Auflösen gut mischen.

Methanol ist gebrauchsfertig.

VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

US-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Wright-Giemsa-Lösung ist ENTZÜNDLICH und TOXISCH. Toxisch bei Einatmen und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Kontakt mit Haut vermeiden.

Phosphatpuffer: Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Methanol ist ENTZÜNDLICH und TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Vorsichtsmaßnahmen gegen elektrostatische Entladungen treffen. Kontakt mit Haut vermeiden. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben (Vorsicht: Substanzen sind noch nicht vollständig geprüft)

Wright-Giemsa-Lösung und Methanol sind HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Hochentzündlich. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.

Phosphatpuffer: Vorsicht: Die Substanz ist noch nicht vollständig geprüft.

Methanol ist HOCHENTZÜNDLICH und TOXISCH. Hochentzündlich. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Toxisch: Gefahr schwerer, irreversibler Schäden bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

VERFAHREN

PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr dafür liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Es sollten frische Filme aus Vollblut oder mit EDTA antikoaguliertem Blut verwendet werden. Dickere Filme (z.B. Knochenmark) benötigen üblicherweise eine längere Färbezeit.

HINWEISE:

- Um eine detailliertere Färbung zu erhalten, kann die Färbezeit verlängert werden. Die Farbe (Blau- oder Rottöne) kann durch Verlängern oder Verkürzen der Zeit im entionisierten Wasser variiert werden.
- Für Knochenmark wird keine schnelle Färbung (30 Sekunden) empfohlen. Bei solchen Präparaten geben 1–3 Minuten im Farbstoff und 2–10 Minuten in entionisiertem Wasser befriedigende Resultate.
- Bei der Stapelfärbung in Färbesystemen werden Objektträgerhalter empfohlen, wie sie z.B. von Miles Scientific für den Tissue-Tek® geliefert werden, da dieses System eine senkrechte Aufstellung der Objektträger ermöglicht.
- Die Farbe kann durch Verlängern oder Verkürzen der Zeit im entionisierten Wasser variiert werden. Knochenmark sollte mindestens 3 Minuten gefärbt und 3–10 Minuten gepuffert werden.
- Die oben angegebenen Zeiten führten in unseren Labors zu befriedigenden Ergebnissen. Je nach persönlichen Vorlieben können diese Zeiten angepasst werden.
- Das für dieses Verfahren empfohlene entionisierte Wasser sollte einen pH zwischen 6,8 und 7,2 haben. Falls das entionisierte Wasser saurer ist als pH 6,8, wird ein Phosphatpuffer empfohlen.
- Falls die Objektträger nicht unmittelbar gefärbt werden können, können sie 1 Minute in Methanol fixiert und getrocknet werden. So schnell wie möglich färben.
- In jedem Durchlauf sollten positive Kontroll-Objektträger getestet werden.
- Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

VERFAHREN:

I. Tauchmethode (Schnell)

- Ungefähr 50 ml Wright-Giemsa-Farbstoff in eine Coplin-Küvette geben.
- Eine andere Coplin-Küvette mit Wasser oder Phosphatpuffer füllen.
- Den vollständig getrockneten Blutfilm mit dem Federrand nach UNTEN ungefähr 30 Sekunden in Wright-Giemsa-Farbstoff stellen. HINWEISE: Ein schnelles Eintauchen für 5–10 Sekunden kann Wasserartefakte auf nicht ganz trockenen Filmen reduzieren.
- Den Objektträger aus dem Farbstoff nehmen und 1–10 Minuten mit dem Federrand nach UNTEN in entionisiertes Wasser oder Phosphatpuffer, pH 6,8–7,2, stellen. DEN OBJEKTRÄGER NICHT BEWEGEN, WÄHREND ER SICH IM ENTIONISIERTEN WASSER BEFINDET.
- Kurz unter entionisiertem Wasser spülen und vor der Untersuchung gründlich an der Luft trocknen lassen.

II. Horizontale Färbemethode

- Den vollständig getrockneten Blutfilm auf einen geeigneten Probenhalter geben.
- Den Objektträger mit 1–2 ml Wright-Giemsa-Farbstoff überschwemmen.
- Nach 1 Minute ein gleiches Volumen entionisiertes Wasser oder Phosphatpuffer, pH 6,8–7,2, zugeben und durch behutsames Blasen auf dem Objektträger gut vermischen.
- Nach 1–3 Minuten gründlich unter entionisiertem Wasser spülen und an der Luft trocknen lassen.

LEISTUNGSMERKMALE

Zellkerne werden in unterschiedlichen Violetttönen gefärbt. Das Zytoplasma wird in unterschiedlichen Tönen von Blau bis hellem Rosarot gefärbt. Im Zytoplasma einiger Zelltypen können feine rote bis violette Granula vorhanden sein. Basophile Zellen weisen dunkelblaue bis schwarze Granula im Zytoplasma auf. Eosinophile Zellen weisen orange Granula im Zytoplasma auf. Rote Blutzellen sollten rosarot bis orange erscheinen.¹

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

LITERATURANGABEN

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

Sigma-Aldrich, Inc. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. WG
Vorherige Ausgabe: 2003-09
Revidiert: 2010-06



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103USA +1 314 771 5765
Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122
oder Email an clintech@sial.com
Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970