

APLICACIÓN

La solución de Wright-Giemsa se utiliza en la tinción de frotis de sangre o de médula ósea. Las soluciones son "para uso diagnóstico *in vitro*."

La tinción de Wright-Giemsa es una modificación de la tinción de Romanowsky que se utiliza en la tinción diferencial de elementos celulares de la sangre. Cuando los frotis se tiñen de la forma descrita en el procedimiento, el núcleo de leucocitos y el citoplasma adoptan la coloración característica azul o rosa. La combinación de colorantes purificados de eosina y tiazina del producto elimina la tinción inconsistente, produciendo una respuesta cromogénica reproducible entre lotes.

REACTIVO

TINCIÓN DE WRIGHT-GIEMSA MODIFICADA

Tinción de Wright-Giemsa modificada, 0,4 % p/v, tamponada a pH 6,8, en metanol.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

TAMPÓN FOSFATO, número de catálogo P3288

Una mezcla de fosfato sódico y fosfato potásico, 0,0083 m/l, pH 7,2

METANOL, sin acetona, número de catálogo M1775

Microscopio / Portaobjetos / Cubreobjetos

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar las soluciones de Wright-Giemsa a temperatura ambiente (18–26 °C). La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad.

Almacenar el tampón fosfato y el metanol a temperatura ambiente (18–26 °C). Almacenar la solución de trabajo de tampón fosfato a 2–8 °C.

Deterioro: Desechar la solución de tinción de Wright-Giemsa si se desarrolla precipitado o si aparecen artefactos acuosos en los hematíes. Desechar la solución de trabajo de tampón fosfato si presenta turbidez o crecimiento bacteriano.

PREPARACIÓN:

La solución de Wright-Giemsa se suministra lista para su uso.

El tampón fosfato (P3288) debe prepararse diluyendo 1 vial de tampón en 3,8 litros de agua desionizada. Mezclar bien hasta su disolución.

El metanol está listo para su uso.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar la Hoja de datos de seguridad del material para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

La solución de Wright-Giemsa es INFLAMABLE y TÓXICA. Tóxica en caso de inhalación e ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Evitar el contacto con la piel.

Tampón fosfato. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

El metanol es INFLAMABLE y TÓXICO. Tóxico por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxico: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. Tomar medidas cautelares contra descargas de electricidad estática. Evitar el contacto con la piel. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.) (Precaución: sustancias en proceso de prueba)

La solución de Wright-Giemsa y el metanol son ALTAMENTE INFLAMABLES y TÓXICOS. Altamente inflamables. Tóxicos por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxicos: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejados de las llamas – no fumar. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Usar ropa y guantes protectores adecuados.

Tampón fosfato. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

El metanol es ALTAMENTE INFLAMABLE y TÓXICO. Altamente inflamable. Tóxico por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxico: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS:

Se recomienda que la recogida de las muestras se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Deben utilizarse frotis frescos de sangre total o frotis frescos procedentes de sangre anticoagulada con EDTA. Los frotis más gruesos (p.ej., médula ósea) generalmente requieren tiempos de tinción más largos.

NOTAS:

1. Para obtener más detalles de las células, el tiempo de tinción puede aumentarse. El color (tonos de azul o rojo) puede variarse aumentando o disminuyendo el tiempo en agua desionizada.
2. La tinción rápida (30 segundos) no es recomendable para muestras de médula ósea. Para esas preparaciones, de 1 a 3 minutos de tinción y de 2 a 10 minutos en agua desionizada dará resultados satisfactorios.
3. Para la tinción de lotes, se recomiendan gradillas de portaobjetos y platos como los que suministra Miles Scientific para Tissue-Tek[®], ya que este sistema permite la colocación vertical de los portaobjetos.
4. El color puede variarse aumentando o disminuyendo el tiempo en agua desionizada. La médula ósea debe teñirse durante al menos 3 minutos y tamponarse entre 3 y 10 minutos.
5. Los tiempos de tinción descritos en los procedimientos indicados han dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias individuales pueden dictar los ajustes de estos tiempos.
6. El agua desionizada recomendada para este procedimiento debe tener un pH entre 6,8 y 7,2. Si el agua desionizada es más ácida que el pH 6,8, se recomienda utilizar un tampón fosfato.
7. En caso de que los portaobjetos no puedan teñirse inmediatamente, pueden fijarse con metanol durante 1 minuto y luego secarse. Teñir cuanto antes.
8. En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo.
9. Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

PROCEDIMIENTO:

I. Método de inmersión (rápido)

1. Colocar unos 50 ml de tinción de Wright-Giemsa en un vaso de Coplin.
2. Llenar otro vaso de Coplin con agua o tampón fosfato.
3. Poner un frotis de sangre completamente seco, con el borde más fino hacia ABAJO, en tinción de Wright-Giemsa durante aproximadamente 30 segundos. NOTA: Una rápida inmersión durante 5–10 segundos puede reducir los artefactos acuosos en los frotis que no estén completamente secos.
4. Retirar los portaobjetos de la solución de tinción y lavarlos con agua desionizada o tampón fosfato, pH 6,8–7,2, con el borde más fino hacia ABAJO, aproximadamente de 1–10 minutos. NO AGITAR EL PORTAOBJETOS MIENTRAS ESTÁ EN AGUA DESIONIZADA.
5. Aclarar brevemente con agua desionizada corriente y secar bien al aire antes de la evaluación.

II. Método de tinción horizontal

1. Colocar los frotis de sangre completamente secos, en la gradilla de tinción adecuada.
2. Cubrir el portaobjetos con 1–2 ml de tinción de Wright-Giemsa.
3. Tras 1 minuto, añadir un volumen igual de agua desionizada o tampón fosfato, pH 6,8–7,2, y mezclar bien soplando con cuidado sobre el portaobjetos.
4. Tras 1–3 minutos, aclarar bien con agua desionizada y secar al aire.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los núcleos se teñirán en diferentes tonos de púrpura. El citoplasma se teñirá en diferentes tonos de azul a rosa claro. El citoplasma de algunas células puede presentar gránulos finos de rojizos a lila. Los basófilos demostrarán gránulos azul oscuro-negros en el citoplasma. Los eosinófilos demostrarán gránulos naranja en el citoplasma. Los hematíes deben mostrar un color de rosa a naranja¹.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

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

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número WG
Revisión anterior: 2003-09
Revisión: 2010-06

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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EE.UU. +1 314 771 5765
Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122
o por correo electrónico a clintech@sial.com
Para realizar pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

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