

FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Wright Stain vér hártályk vagy csontvelő hártályk festésére használandó. Az oldatot "in vitro diagnosztikai" felhasználásra javallták.

A Wright Stain egy módosított Romanowsky festék, mely a vér sejt elemeinek differenciális festésére való. Amikor a vér hártálykat az eljárásban leírtak szerint kezelik, a fehérvérsejt magja és a citoplazma jellegzetes kék vagy rózsaszín színt vesz fel. A tisztított festékek a Wright Stain ACCUSTAIN® készítményeiben kizárják az ellentmondásos festést és tételről tételre reprodukálható kromogén reakciót eredményez.

A kiadványban szereplő eljárás leírja a Wright Stain használatát kézi mártásos festékként vagy tétel festőberendezésben való használathoz, mint a Geometric Data által szállított Hemastainer, az EM Diagnostic Systems, Inc. által szállított Midas II és a Fisher Scientific által szállított Fisher Stainmaster.

REAGENSEK

WRIGHT STAIN, MODIFIED, Katalógus szám: WS

Wright Stain, módosított 0,3 % w/v, pH=6,8-on puffereelt metanolban.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK

FOSZFÁT PUFFER, Katalógus szám: P 3288

Nátrium-foszfát és kálium-foszfát keveréke, 0,0083 m/l, pH=7,2

RINSE SOLUTION 2, Katalógus szám: RS 2

Etanol oldat, 18 %, nedvesítőszerezl Tartósítószerként 0,02 % nátrium-azidot tartalmaz.

METANOL, ACETON-MENTES, Katalógus szám: M 1775

Mikroszkóp / Tárgelemek / Fedőlemezek

TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

A Wright oldatok szobahőmérsékleten (18–26 °C) tárolandók. A reagens címkéjén feltüntették a lejáratí időt.

A foszfát puffer, a Rinse Solution 2 és a metanol szobahőmérsékleten (18–26 °C) tárolandó.

A munka foszfát puffer 2–8 °C-on tárolandó. Használat előtt felmelegítendő.

MEGROMLÁS:

A Wright festék oldatok megsemmisítendő, ha csapadék képződik. A munka foszfát puffer oldat megsemmisítendő, ha zavarosság vagy látható bakteriális fejlődés van jelen.

ELŐKÉSZÍTÉS:

A Wright Stain oldat használatra kész, habár a Wright festék hígítható ha automata készülékbe teszik. Lásd a következő utasításokat.

A foszfát puffert (P3288) el kell készíteni 1 ampulla puffert 1 gallon vagy 3,8 liter ioncserélt vízzel hígítva. Jól keverjék össze, hogy feloldódjon.

A metanol használatra kész.

ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumi reagenssel történő munka során a szokásos övintézkedéseket be kell tartani. A hulladékok az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével kell megsemmisíteni. A friss kockázati, veszély vagy biztonsági információk az anyagbiztonsági adatlapban találhatóak.

Az Amerikai Egyesült Államok kockázati és biztonsági mondatai

A Wright Stain GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Szem- és bőrizgató hatású. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy roszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Rinse Solution 2 GYŰLÉKONY és ÁRTALMAS. Gyúlékony. Lenyelve ártalmas. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőkesztyűt kell viselni. A nátrium-azid reakcióba léphet az ólommal és a rézzel, és rendkívül robbanékony vegyületeket képez. Célszervek: Idegek és máj.

Foszfát puffer. Figyelmeztetés: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A metanol GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve, lenyelve mérgező (toxikus): nagyon súlyos maradandó egészségkárosodást okozhat. Szem- és bőrizgató hatású. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! A szatikus feltöltődés ellen védekezni kell. A bőrrel való érintkezés kerülendő. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy roszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Az Európai Unió kockázati és biztonsági mondatai (Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.)

A Wright Stain és a metanol RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Rendkívül gyúlékony. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve, lenyelve mérgező (toxikus): nagyon súlyos maradandó egészségkárosodást okozhat. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Baleset vagy roszullét esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni.

A Rinse Solution 2 INGERLŐ. Gyúlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. – Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni.

Foszfát puffer. Figyelmeztetés: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

ELJÁRÁS

MINTA BEGYŰJTÉSE:

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2. sz. NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmilyen ismert módszer nincs, mely teljesen biztosítja, hogy a vérminták vagy a szövet ne terjeszsen fertőzést. Ezért, minden vér származékot vagy szövetet lehetségesen fertőzőnek kell tekinteni.

EDTA-ban antikoagulált friss egész vér hártályk vagy a vér friss hártályk használandók. A hártályk előkészítése előtt a vér alaposan összekeverendő szobahőmérsékleten (18–26 °C). A hártálykat a vér begyűjtésétől számított 1 órán belül kell elkészíteni. Ha nem aznap festik, a tárgyemezeket abszolút metanolban fixálni kell és pormentes tárolóedényzetben kell tárolni.

MEGJEGYZÉSEK:

- Részletesebb sejtjelmezéshez növelni kell a festési időt. A szín (kék vagy vörös tónusa) változhat az ioncserélt vízben eltöltött idő növelésével vagy csökkentésével.
- Csontvelő esetében nem javasolt a gyors (15 másodperces) festés. Az ilyen preparátum legyen 1–3 percet a festékben és 2–6 percet ioncserélt vízben, ez ad kielégítő eredményt.
- Tétel festéshez tárgyemelek állványok és edények javasoltak (amelyeket a Miles Scientific for Tissue-Tek® szállít), mivel ez a rendszer lehetővé teszi a tárgyemezek függőleges elhelyezését.
- A szín változhat az ioncserélt vízben eltöltött idő növelésével vagy csökkentésével. A csontvelőt legalább 90 másodpercig kell festeni és 90 másodperc- 3 percig puffereelni.
- A fenti eljárásban megadott festési idők kielégítő eredményeket adtak a laboratóriumunkban. Az egyéni beállítások megsabhatják ezen idők beállítását.
- A kézi eljárás idői szintén használhatók a Hemastainer-rel, feltéve, hogy a hinta off helyzetben van.
- Az időzítés változtatható az egyéni beállításokhoz illesztve. (automata eljárások)
- A víz öblítés legyen ioncserélt vízben. (automata eljárások)
- Ha az ioncserélt víz nem semleges pH-jú, javasoljuk a foszfát puffer használatát (pH=7,2), katalógus szám: P3288.
- Mindegyik vizsgálathoz szükség van pozitív kontroll tárgyemezekre.
- Az ilyen eljárásból kapott adatok csak segítségként szolgálnak a diagnózishoz és egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell vizsgálni.

ELJÁRÁS:

I. Mártásos módszer (gyors – kézi)

- Tegyenek körülbelül 50 ml Wright Stain-t egy Coplin edénybe.
MEGJEGYZÉS: SZOROSAN TÖMÍTVE TARTSÁK, AMIKOR NEM HASZNÁLJÁK. Cseréljék ki, amikor víz termékek jelennek meg a vörös sejtekben vagy csapadék látható.
2. Töltsenek meg egy másik Coplin edényt ioncserélt vízzel.
3. Tegyenek alaposan szárított vér hártályt, hajszállelet LE WRIGHT STAIN -be körülbelül 15 másodpercre.
MEGJEGYZÉS: Az 5–10 másodperces gyors bemártások csökkenthetik a vizes termékeket a hártály, melyek nem száradtak meg alaposan.
4. Vegyék ki a tárgyemezeket a festékből és tegyék ioncserélt vízbe hajszállelet LE körülbelül 30 másodpercre. NE RÁZZÁK A TÁRGYLEMEZT, AMÍG AZ IONCSERÉLT VÍZBEN VAN.
5. Rövid időre öblítsék le a folyó ioncserélt vízben, és alaposan szárítsák meg levegőn mielőtt értékelik.

II. Horizontális festési módszer (kézi)

- Tegyék az alaposan megszáritott vér hártályt egy megfelelő festő állványra.
- Öntsék le a tárgyemezt 1–2 ml WRIGHT STAIN-nel.
- 30 másodperc után, a 2. lépés Wright Stain-jének leöblítése nélkül, adjanak hozzá ugyanolyan térfogatú ioncserélt vizet és keverjék össze alaposan óvatosan fújva a tárgyemezt.
- 1 perc után alaposan öblítsék le az ioncserélt vízben és szárítsák meg levegőn.

Tétel festés Hemastainerben

- Állítsák be az időzítőket az egyes állomásoknál a következő időkre:
 1. állomás – 30 másodperc
 2. állomás – 2 perc
 3. állomás – 3,5 perc
 4. állomás – 30 másodperc
 5. állomás – Ugorják át és menjenek a "levegőn szárítás" részhez
- Készítsék elő az állomásokat a következő módon:
 1. állomás – abszolút metanol, 500 ml
 2. állomás – ACCUSTAIN Wright Stain, 350 ml és 150 ml abszolút metanol
 3. állomás – 500 ml foszfát puffer, pH=7,2
 4. állomás – 3,8 l ioncserélt víz és 100 ml foszfát puffer
 5. állomás – Hagyják üresen
- Kapcsolják a kapcsolót ON állásba.
- Állítsák az Auto-manual kapcsolót MANUAL állásba.
- Állítsák a Right/Left kapcsolót LEFT állásba.
- Állítsák a hinta kapcsolót ON állásba.
- Állítsák a szivattyú kapcsolót AUTO állásba.
- Töltsék meg a kosarat levegőn alaposan megszáritott vér hártálykkal.
- Illesszék a kosarat a kampóra és szorítsák meg.
- Indítsák el a folyamatot az Auto/Manual kapcsolót AUTO állásba kapcsolva.
- Amikor a kör lejárt és a tárgyemezek teljesen szárazak, állítsák az Auto/manual kapcsolót MANUAL állásba. Ekkor a kosár visszatér a kiindulási helyzetbe.

Tétel festés Fisher Stainmaster-rel

Állítsák be a programot a következőképp:

Esemény	Állomás	Reagens	Időpont: (perc)
1	1	abszolút metanol	0,5
2	2	Wright Stain, módosított, Katalógus szám: WS-128	1,5
3	3	Foszfát puffer. Katalógus szám: P3288	1,0
4	6	Ioncserélt víz	0,3
5	5	Rinse Solution 2, Katalógus szám: RS 2	0,7
6	4	Ioncserélt víz	0,3
7	Száraz	levegő	5,0

Tétel festés Midas II-vel

Állítsák be a programot a következőképp:

Lépés	Füldő	Reagens	Időpont: (másodperc)
1	1	abszolút metanol	30
2	2	Wright Stain, módosított, Katalógus szám: WS-128	60-90
3	3	Foszfát puffer. Katalógus szám: P3288	60
4	4	Folyó ioncserélt víz	10
5	Száraz	levegő	3 perc vagy amíg szárad

A nem használt füldők kihagyhatók.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A sejtmagok a bíbor árnyalataiban változnak. A citoplazmikus festés a kék és halvány rózsaszín árnyalataiban változik. Finom vöröses-lila szemcsék lehetnek jelen néhány sejt típus citoplazmáiban. A basofil sejtek jelzik a sötétkék fekete szemcséket a citoplazmában. Az eozinofilek jelzik az élénk narancs szemcséket a citoplazmában. A vörösvérsejtek rózsaszínek-narancs színűek.¹

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatával.

IRODALOMJEGYZÉK

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

A Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek az ebben és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban megjelent információknak. A vevő köteles meghatározni, hogy az adott felhasználásra megfelel-e (megfelelnek-e) a termék(ek). További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Kérjük megnézni a számla vagy csomagolóanyag hátsó oldalát az árusítás további kikötései és feltételei véget.

Eljárás száma: WS
Korábbi felülvizsgálat: 2003-09
Átdolgozva: 2010-06



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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765
M szaki szolgálat: 800-325-5832 vagy hívják 314-771-3122
vagy küldjenek e-mailt: techserv@sial.com
Megrendelés: 800-325-3010 vagy hívják 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

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