SIGMA-ALDRICH®

COLORAZIONE DI GIEMSA ACCUSTAIN®

(Procedura n. GS-10)

USO PREVISTO

Le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald sono idonee alla colorazione di pellicole di sangue o midollo osseo. Le soluzioni sono riservate al solo "uso diagnostico in vitro".

La colorazione di Giemsa è una soluzione tamponata di tiazina-eosina, formulata specificatamente per tingere le cellule del sangue simili al prodotto originale descritto da Giemsa. Tale soluzione può essere utilizzata da sola oppure insieme ad una delle colorazioni di May-Grünwald reperibili presso Sigma-Aldrich.

REAGENTE

COLORAZIONE DI GIEMSA, n. di catalogo GS
Colorazione di Giemsa (modificata) 0,4% p/v; in soluzione tamponata al metanolo a pH 6,9; con stabilizzatori.

MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

COLORAZIONE DI MAY-GRÜNWALD, n. di catalogo MG
Colorazione di May-Grünwald 0,25% p/v; in metanolo.

TAMPONE FOSFATO, n. di catalogo P3288
Miscela di fosfato di sodio e fosfato di potassio 0,0083 mol/l; pH 7,2.

Microscopio / Vetrini / Vetri coprioggetti / Piatti di colorazione

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald a temperatura ambiente (18–26°C). La data di scadenza è indicata sull'etichetta dei reagenti.

Conservare il tampone fosfato a temperatura ambiente (18–26°C).

DETERIORAMENTO

Scartare le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald se si forma un precipitato. Scartare il tampone fosfato in soluzione di lavoro se intorbidisce o se è visibile una crescita batterica.

PREPARAZIONE

Le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald sono fornite pronte per l'uso, tuttavia è possibile diluire la soluzione di Giemsa con rapporto 1:20 prima dell'uso, aggiungendo acqua deionizzata oppure tampone fosfato. Il tampone fosfato (n. di catalogo P3288) deve essere diluito fino ad ottenere 3,8 litri di soluzione. Mescolare con cura per sciogliere.

PRECAUZIONI

Seguire le normali precauzioni adottate per i reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti in conformità alle normative vigenti a livello locale, regionale o nazionale. Fare riferimento al foglio dati relativo alla sicurezza dei materiali per informazioni aggiornate riguardanti i rischi, i pericoli e la sicurezza associati all'uso di questi prodotti.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.S.A.)

Le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald sono INFIAMMABILI e TOSSICHE. Tossiche per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossiche: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritanti per gli occhi e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile).

Tampone fosfato. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

Dichiarazioni sui rischi e la sicurezza (U.E.) – Attenzione: sostanze non ancora pienamente testate!

Le soluzioni di Giemsa e May-Grünwald sono FACILMENTE INFIAMMABILI e TOSSICHE. Facilmente infiammabili. Tossiche per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossiche: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. In caso di incidente o di malessere, ricorrere immediatamente a cure mediche (mostrando l'etichetta del prodotto se possibile). Indossare indumenti e guanti adeguatamente protettivi.

Tampone fosfato. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

PROCEDURA

RACCOLTA DEI CAMPIONI

Per la raccolta dei campioni, attenersi alla procedura descritta nel documento NCCLS numero M29-A2. Nessun metodo di analisi noto garantisce con assoluta certezza che i campioni di sangue o il tessuto non trasmettano infezioni. Di conseguenza tutti i derivati del sangue e i campioni di tessuto devono essere considerati potenziali veicoli di infezioni.

È possibile utilizzare pellicole di sangue intero fresco, pellicole di midollo osseo fresco oppure campioni conservati in anticoagulante (EDTA).

NOTE

1. Le procedure di colorazione descritte nel presente foglietto illustrativo hanno prodotto risultati soddisfacenti nel nostro laboratorio. È possibile regolare i tempi in base alle proprie preferenze di colore.
2. Includere vetrini di controllo positivi in ogni seduta.
3. I dati generati da questa procedura sono da utilizzarsi soltanto a sostegno della diagnosi e devono essere valutati congiuntamente ad altri esami e dati diagnostici.

PROCEDURA

Giemsa May-Grünwald

1. Diluire la colorazione di Giemsa con acqua deionizzata, con rapporto 1:20. Per ottenere un blu più intenso, utilizzare acqua tamponata a pH 7,2 anziché acqua deionizzata.
2. Immergere i vetrini nella colorazione di May-Grünwald per 5 minuti.
3. Immergere i vetrini in tampone fosfato o tampone tris (20–70 mmol/l) a pH 7,2 per 1,5 minuti.
4. Immergere i vetrini nella soluzione di Giemsa diluita (vedere punto 1) per 15–20 minuti.
5. Sciacquare BREVEMENTE i vetrini in acqua DEIONIZZATA.
6. Asciugare all'aria ed esaminare al microscopio.

Colorazione di Giemsa standard

1. Fissare i vetrini in metanolo per 5–7 minuti.
2. Asciugare all'aria.
3. Diluire la colorazione di Giemsa con acqua deionizzata, con rapporto 1:20. È possibile apportare modifiche alla tonalità del colore diluendo con il tampone.
4. Colorare la pellicola per 15–60 minuti.
5. Sciacquare in acqua deionizzata.
6. Asciugare all'aria ed esaminare al microscopio.

Colorazione di Giemsa rapida

1. Dopo avere asciugato all'aria le pellicole di sangue, immergerle nella colorazione di Giemsa non diluita per 1–2 minuti.
2. Immergere in acqua deionizzata per 2–4 minuti, in base alle proprie preferenze di colore.
3. Sciacquare in acqua deionizzata.
4. Asciugare all'aria ed esaminare al microscopio.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

I nuclei assumeranno svariate tonalità di viola. Il colore del citoplasma sarà di varie gradazioni, dal blu al rosa pallido. Nel citoplasma di alcuni tipi di cellule potrebbero comparire alcuni granuli dal rossiccio al lilla. I basofili saranno caratterizzati dalla presenza di granuli tra il blu scuro e il nero nel citoplasma. Gli eosinofili saranno caratterizzati dalla presenza di granuli di color arancione vivo nel citoplasma. I globuli rossi dovrebbero assumere un colore tra il rosa e l'arancione.[1]

Se i risultati osservati si discostano dai risultati attesi, contattare l'assistenza tecnica Sigma-Aldrich per informazioni di supporto.

BIBLIOGRAFIA

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

Sigma-Aldrich, Inc. garantisce che i propri prodotti sono conformi alle informazioni contenute nel presente documento e in altre pubblicazioni Sigma-Aldrich. Spetta all'acquirente stabilire se i prodotti sono idonei all'uso particolare che ne viene fatto. È possibile che sussistano ulteriori termini e condizioni. Vedere il retro della fattura o la distinta di imballaggio per i termini e le condizioni di vendita.

Procedura n. GS-10
Revisione precedente: 2003-09
Revisione: 2010-06

CE EC REP AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham TW20 9BD (Regno Unito)

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 (USA) +1 314 771 5765
Assistenza tecnica: a carico del destinatario +1 314 771 3122
o tramite e-mail all'indirizzo clintech@sial.com
Per ordinare: a carico del destinatario +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim (Germania) 49-7329-970