

USO PREVISTO

La colorazione di Wright-Giemsa è idonea all'uso con le pellicole di sangue o midollo osseo. Le soluzioni sono riservate al solo "uso diagnostico in vitro".

La colorazione di Wright-Giemsa è una colorazione del tipo Romanowsky modificata, adatta a colorare in modo differenziale gli elementi cellulari del sangue. Quando le pellicole di sangue vengono colorate secondo la procedura descritta, il nucleo e il citoplasma dei globuli bianchi assumono un caratteristico colore blu o rosa. La combinazione dei coloranti contenuti nel prodotto assicurano una colorazione omogenea e la riproducibilità.

REAGENTE

COLORAZIONE DI GIEMSA, MODIFICATA

Colorazione di Wright-Giemsa modificata 0,4% p/v, tamponata a pH 6,8 in metanolo.

MATERIALI SPECIALI NECESSARI MA NON FORNITI

TAMPONE FOSFATO, N. di catalogo P3288

Miscela di fosfato di sodio e fosfato di potassio 0,0083 M/L; pH 7,2.

METANOLO senza acetone, n. di catalogo M1775

Microscopio / Vetrini / Vetri coprioggetti

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

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

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

Conservare il tampone fosfato in soluzione di lavoro a 2–8°C.

DETERIORAMENTO Scartare la soluzione di Wright-Giemsa se si nota la presenza di acqua nei globuli rossi o se si forma un precipitato. Scartare il tampone fosfato in soluzione di lavoro se intorbidisce o se è visibile una crescita batterica.

PREPARAZIONE

La soluzione di Wright-Giemsa viene fornita pronta per l'uso.

Preparare il tampone fosfato (n. di catalogo P3288) diluendo 1 flacone del tampone in 3,8 litri di acqua deionizzata. Mescolare con cura per sciogliere.

Il metanolo è pronto per l'uso.

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.)

La soluzione di Wright-Giemsa è INFIAMMABILE e TOSSICA. Tossica per inalazione e ingestione. Irritante per gli occhi e la cute. 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). Evitare il contatto con la cute.

Tampone fosfato. Attenzione: sostanza non ancora pienamente testata.

Il metanolo è INFIAMMABILE e TOSSICO. Tossico per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossico: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Irritante per gli occhi e la cute. Mantenere i contenitori ben chiusi. Tenere lontano da fiamme e scintille – Non fumare. Evitare l'accumulo di scariche elettrostatiche. Evitare il contatto con la cute. 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).

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

La soluzione di Wright-Giemsa e il metanolo sono FACILMENTE INFIAMMABILI e TOSSICI. Facilmente infiammabili. Tossici per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossici: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Mantengono 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.

Il metanolo è FACILMENTE INFIAMMABILI e TOSSICO. Facilmente infiammabile. Tossico per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Tossico: pericolo di effetti irreversibili per inalazione, a contatto con la cute o per ingestione. Mantengono 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).

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.

Utilizzare solo pellicole di sangue intero fresco oppure pellicole di sangue conservato in anticoagulante (EDTA). Pellicole con uno spessore maggiore (ad esempio di midollo osseo) in genere prevedono tempi di colorazione più lunghi.

NOTE

1. Per ottenere un maggiore dettaglio cellulare, è possibile allungare il tempo della colorazione. Il colore (tonalità di blu o rosso) può essere variato aumentando o riducendo il tempo di immersione nell'acqua deionizzata.
2. La colorazione rapida (30 secondi) è sconsigliata per il midollo osseo. Per questo tipo di preparato, è possibile ottenere risultati soddisfacenti con 1–3 minuti di immersione nel colorante e 2–10 minuti di immersione in acqua deionizzata.
3. Per la colorazione a lotti si consiglia di utilizzare piatti e rack per vetrini del tipo prodotto da Miles Scientific per Tissue-Tek®, un sistema che consente il posizionamento dei vetrini in senso verticale.
4. Il colore può essere variato aumentando o riducendo il tempo di immersione nell'acqua deionizzata. I vetrini di midollo osseo devono essere immersi nel colorante per almeno 3 minuti e nel tampone per 3–10 minuti.
5. I tempi di colorazione descritti nelle procedure citate hanno prodotto risultati soddisfacenti nei nostri laboratori. È possibile regolare questi tempi in base alle proprie preferenze personali.
6. L'acqua deionizzata da utilizzare per questa procedura deve avere un pH compreso tra 6,8 e 7,2. Se l'acqua deionizzata a disposizione ha un pH più acido di 6,8, si consiglia di sostituirla con un tampone fosfato.
7. Nel caso in cui non sia possibile procedere immediatamente alla colorazione, fissare i vetrini per 1 minuto e asciugarli. Applicare la colorazione appena possibile.
8. Includere vetrini di controllo positivi in ogni seduta.
9. 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

I. Metodo ad immersione (rapido)

1. Versare circa 50 ml della colorazione di Wright-Giemsa in una vaschetta Coplin.
2. Riempire un'altra vaschetta Coplin di acqua o tampone fosfato.
3. Immergere la pellicola di sangue perfettamente asciutta (estremità sottile rivolta VERSO IL BASSO) nella soluzione di Wright-Giemsa per circa 30 secondi. **NOTA** Un bagno rapido di 5–10 secondi potrebbe ridurre la presenza di macchie d'acqua sulle pellicole che non sono perfettamente asciutte.
4. Estrarre il vetrino dal colorante e collocarlo nell'acqua deionizzata o nel tampone fosfato (pH 6,8–7,2), con l'estremità sottile rivolta VERSO IL BASSO, per circa 1–10 minuti. **NON SCUOTERE IL VETRINO MENTRE È IMMERSO NELL'ACQUA DEIONIZZATA.**
5. Sciacquare brevemente in acqua deionizzata corrente e asciugare all'aria prima di procedere all'esame.

II. Metodo di colorazione orizzontale

1. Collocare la pellicola di sangue perfettamente asciutta su un rack per colorazione idoneo.
2. Inondare il vetrino con 1–2 ml di colorazione di Wright-Giemsa.
3. Trascorso 1 minuto, aggiungere un pari volume di acqua deionizzata o di tampone fosfato (pH 6,8–7,2) e mescolare con cura soffiando dolcemente sul vetrino.
4. Trascorsi 1–3 minuti, sciacquare accuratamente con acqua deionizzata e asciugare all'aria.

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 arancioni nel citoplasma. I globuli rossi dovrebbero assumere un colore tra il rosa e l'arancione.

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. WG
Revisione precedente: 2003-09
Revisione: 2010-06

  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