

UTILIZAÇÃO PREVISTA

A solução Wright-Giemsa destina-se a ser utilizada na coloração de esfregaços do sangue ou da medula óssea. As soluções destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro."

A coloração Wright-Giemsa consiste numa modificação da coloração de Romanowsky utilizada para a diferenciação através da coloração dos elementos celulares do sangue. Quando os esfregaços sanguíneos são corados conforme descrito no procedimento, o núcleo dos glóbulos brancos e o citoplasma assumem uma coloração característica azul ou cor-de-rosa. A combinação de corantes purificados de eosina e tiazina no produto elimina a coloração inconsistente e resulta numa resposta cromogénica reproduzível de lote para lote.

REAGENTE

CORANTE WRIGHT-GIEMSA MODIFICADO

Corante Wright-Giemsa, modificado, 0,4% p/v, tamponado em metanol, pH 6,8.

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

TAMPÃO FOSFATO, N.º de Catálogo P3288

Uma mistura de fosfato de sódio e fosfato de potássio, 0,0083 M/L, pH 7,2

METANOL, sem acetona, N.º de Catálogo M1775

Microscópio / Lâminas / Soluções de protecção

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

Armazenar as soluções Wright-Giemsa à temperatura ambiente (18–26 °C). O prazo de validade está indicado no rótulo do reagente.

Armazenar o tampão fosfato e o metanol à temperatura ambiente (18–26 °C). Armazenar a solução de trabalho de tampão fosfato a 2–8 °C.

Deterioração: Eliminar a solução de coloração Wright-Giemsa se se verificar a formação de um precipitado ou de artefactos aquosos nos glóbulos vermelhos. Eliminar a solução de trabalho de fosfato se se verificarem indícios de turvação ou crescimento bacteriano visível.

PREPARAÇÃO:

A solução Wright-Giemsa é fornecida pronta para ser utilizada.

Preparar o tampão fosfato (P3288) diluindo 1frasco de tampão com 3,8 litros de água desionizada. Misturar bem para dissolver.

O metanol está pronto para ser utilizado.

PRECAUÇÕES:

Deverão ser aplicadas as precauções normais relativamente ao manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos de acordo com todos os regulamentos locais, estaduais, regionais ou nacionais. Consultar a ficha de dados de segurança dos materiais para obter informações mais actualizadas sobre os riscos, perigos ou segurança.

Declarações de risco e segurança dos EUA

A solução Wright-Giemsa é INFLAMÁVEL e TÓXICA. Tóxica por inalação e em caso de ingestão. Irritante para os olhos e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Evitar o contacto com a pele.

Tampão fosfato. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O metanol é INFLAMÁVEL e TÓXICO. Tóxico por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Tóxico: Possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Irritante para os olhos e pele. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Evitar acumulação de cargas electrostáticas. Evitar o contacto com a pele. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

Declarações de risco e segurança da UE (Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para estas substâncias)

A solução Wright-Giemsa e o metanol são ALTAMENTE INFLAMÁVEIS e TÓXICOS. Altamente inflamável. Tóxicos por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Tóxicos: Possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível). Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

Tampão fosfato. Atenção: Ainda não foram realizados todos os testes para esta substância.

O metanol é ALTAMENTE INFLAMÁVEL e TÓXICO. Altamente inflamável. Tóxico por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Tóxico: Possibilidade de efeitos irreversíveis bastante graves por inalação, em contacto com a pele e em caso de ingestão. Manter o recipiente adequadamente fechado. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

PROCEDIMENTO

COLHEITA DE AMOSTRAS:

Recomenda-se que a colheita de amostras seja realizada de acordo com o documento M29-A2 da NCCLS. Nenhum método de teste conhecido poderá garantir totalmente que as amostras sanguíneas ou de tecido não irão transmitir infecções. Por essa razão, todos os derivados sanguíneos ou amostras de tecido deverão ser considerados potencialmente infecciosos.

Deverão utilizar-se esfregaços de sangue total preparados em estado fresco ou esfregaços sanguíneos preparados em estado fresco anticoagulados com EDTA. Os esfregaços mais espessos (por exemplo, da medula óssea) necessitarão, normalmente, de tempos de coloração mais longos.

NOTAS:

- Para se obter um maior pormenor celular, é possível aumentar o tempo de coloração. A cor (tons de azul ou vermelho) poderá variar com o aumento ou redução do tempo em água desionizada.
- Não se recomenda uma coloração rápida (30 segundos) relativamente à medula óssea. Para este tipo de preparações, 1 a 3 minutos em corante e 2 a 10 minutos em água desionizada é o ideal para se obter resultados satisfatórios.
- Para a coloração em lote, recomenda-se a utilização de suportes de lâminas e placas como, por exemplo, os fornecidos pela Miles Scientific para Tissue-Tek®, uma vez que este sistema permite uma colocação vertical das lâminas.
- A cor poderá variar com o aumento ou redução do tempo em água desionizada. Os esfregaços de medula óssea deverão ser colorados durante, pelo menos, 3 minutos e tamponados durante 3 a 10 minutos.
- Os tempos de coloração indicados nos procedimentos anteriores produziram resultados satisfatórios nos nossos laboratórios. As preferências individuais poderão definir ajustes destes tempos.
- O pH da água desionizada recomendada para este procedimento deverá situar-se entre 6,8 e 7,2. Se a água desionizada for mais ácida que o pH 6,8, recomenda-se a utilização de um tampão fosfato.
- Caso não seja possível proceder à coloração imediata das lâminas, estas deverão ser fixadas em metanol durante 1 minuto e, em seguida, secas. Proceder à coloração o mais rápido possível.
- Devem incluir-se lâminas de controlo positivo em cada execução.
- Os dados obtidos com este procedimento servem apenas para auxiliar o diagnóstico e deverão ser analisados em conjunto com outros testes de diagnóstico ou informações clínicas.

PROCEDIMENTO:

I. Método de imersão (Rápido)

- Colocar aproximadamente 50 mL de corante Wright-Giemsa numa jarra de Coplin.
- Encher outra jarra de Coplin com água ou tampão fosfato.
- Colocar o esfregaço sanguíneo completamente seco, com a área em bisel para BAIXO, no corante Wright-Giemsa durante aproximadamente 30 segundos. NOTA: Uma imersão rápida durante 5 a 10 segundos poderá reduzir os artefactos aquosos nos esfregaços que não estiverem completamente secos.
- Retirar a lâmina do corante e colocar em água desionizada ou tampão fosfato, pH 6,8–7,2, com a área em bisel virada para BAIXO, durante aproximadamente 1 a 10 segundos. NÃO AGITAR A LÂMINA QUANDO ESTA ESTIVER EM ÁGUA DESIONIZADA.
- Passar brevemente por água desionizada corrente e deixar secar bem ao ar antes de proceder à avaliação.

II. Método de coloração horizontal

- Colocar o esfregaço sanguíneo completamente seco num suporte de coloração apropriado.
- Imergir a lâmina em 1 a 2 mL de corante Wright-Giemsa.
- Ao fim de 1 minuto, adicionar um volume igual de água desionizada ou tampão fosfato, pH 6,8–7,2, e misturar bem, soprando suavemente sobre a lâmina.
- Após decorridos 1 a 3 minutos, lavar completamente com água desionizada e deixar secar ao ar.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Os núcleos apresentarão diversos tons de púrpura. A coloração citoplásmica apresentará diversos tons de azul a cor-de-rosa claro. Poderão verificar-se grânulos avermelhados nítidos a lilases no citoplasma de determinados tipos de células. Os basófilos irão demonstrar grânulos azuis-escuros a pretos no citoplasma. Os eosinófilos irão demonstrar grânulos cor-de-laranja no citoplasma. Os glóbulos vermelhos deverão ser cor-de-rosa a cor-de-laranja.¹



Se os resultados observados forem diferentes dos esperados, contactar a Assistência Técnica da Sigma-Aldrich para mais informações.

BIBLIOGRAFIA

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

A Sigma-Aldrich, Inc. garante que os seus produtos estão em conformidade com as informações contidas nesta e em outras publicações da Sigma-Aldrich. O comprador deverá determinar a adequação do(s) produto(s) ao fim particular a que se destinam. Poderão aplicar-se termos e condições adicionais. Consultar o verso da factura ou carta de porte para mais informações sobre os termos e condições de venda adicionais.

Procedimento N.º WG
Revisão Anterior: 2003-09
Revisto: 2010-06

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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EUA +1 314 771 5765
Assistência Técnica: chamada paga no destino +1 314 771 3122
ou endereço de correio electrónico: clintech@sial.com
Para encomendar: chamada paga no destino +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

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