

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O corante de Wright destina-se a ser utilizado na coloração de esfregaços do sangue ou da medula óssea. As soluções destinam-se à "utilização em diagnóstico in vitro."

A coloração de Wright consiste numa modificação da coloração de Romanowsky utilizada para a diferenciação através da coloração dos elementos celulares do sangue. Quando os esfregaços sanguíneos são tratados conforme descrito no procedimento, o núcleo dos glóbulos brancos e o citoplasma assumem uma coloração característica azul ou cor-de-rosa. Os corantes purificados nas formulações ACCUSTAIN da coloração de Wright eliminam a coloração inconsistente e resultam em respostas cromogénicas reproduzíveis de lote para lote.

Os procedimentos apresentados neste folheto informativo descrevem a utilização do corante de Wright como um corante de imersão normal ou para utilização nos corantes em lotes como, por exemplo, o Hemastainer fornecido pela Geometric Data, o Midas II fornecido pela EM Diagnostic Systems, Inc. e o Fisher Stainmaster fornecido pela Fisher Scientific.

REAGENTES

CORANTE DE WRIGHT, MODIFICADO, N.º de Catálogo WS

Corante de Wright, modificado 0,3 % p/v, tamponado em metanol, pH 6,8.

MATERIAIS ESPECIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS:

TAMPÃO FOSFATO, N.º de Catálogo P 3288

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

SOLUÇÃO DE LAVAGEM 2, N.º de Catálogo RS 2

Solução de etanol, 18 %, de agente humedecedor. Contém azida de sódio a 0,02 % como conservante.

METANOL, SEM ACETONA, N.º de Catálogo M 1775

Microscópio / Lâminas / Soluções de protecção

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE:

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

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

Armazenar a solução de trabalho de tampão fosfato a 2–8 °C. Aquecer antes de utilizar.

DETERIORAÇÃO:

Eliminar as soluções de coloração de Wright se se verificar a formação de um precipitado. Eliminar a solução de trabalho de tampão fosfato se se verificarem indícios de turvação ou crescimento bacteriano visível.

PREPARAÇÃO:

A solução de coloração de Wright está pronta para ser utilizada, embora o corante de Wright possa ser diluído, caso seja colocado num instrumento automatizado. Consultar as instruções seguintes.

Preparar o tampão fosfato (P3288) diluindo 1 frasco 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

O corante de Wright é INFLAMÁVEL e TÓXICO. Tóxico 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. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas. Em caso de acidente ou de indisposição, consultar imediatamente um médico (mostrar-lhe o rótulo se possível).

A solução de lavagem 2 é COMBUSTÍVEL e NOCIVA. Inflamável. Nociva em caso de ingestão. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar luvas apropriadas. A azida de sódio poderá reagir com o chumbo e cobre formando compostos altamente explosivos. Órgãos alvo: Nervos e fígado.

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)

O corante de Wright e o metanol são ALTAMENTE INFLAMÁVEIS e TÓXICOS. Altamente inflamáveis. 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.

A Solução de Lavagem 2 é IRRITANTE. Inflamável. Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele. Conservar longe de qualquer fonte de ignição – não fumar. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um médico. Usar vestuário de protecção e luvas adequadas.

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

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. Antes da preparação dos esfregaços, o sangue deverá ser devidamente misturado e deverá estar à temperatura ambiente (18–26 °C). Os esfregaços deverão ser preparados no espaço de 1 hora após a colheita do sangue. Caso não se proceda à coloração no próprio dia, as lâminas deverão ser fixadas em metanol absoluto e conservadas num recipiente sem poeiras.

NOTAS:

1. 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.
2. Não se recomenda uma coloração rápida (15 segundos) relativamente à medula óssea. Para este tipo de preparações, 1 a 3 minutos em corante e 2 a 6 minutos em água desionizada é o ideal para se obter resultados satisfatórios.
3. 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.
4. 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, 90 segundos e tamponados durante 90 segundos a 3 minutos.
5. Os tempos de coloração indicados nos procedimentos anteriores produziram resultados satisfatórios nos nossos laboratórios. As preferências individuais poderão definir ajustes destes tempos.
6. Os tempos para o procedimento manual também poderão ser utilizados com o Hemastainer, desde que a oscilação esteja desligada.
7. Os tempos poderão ser alterados de modo a se adequarem às preferências individuais. (Procedimentos automatizados)
8. As lavagens deverão ser feitas com água desionizada. (Procedimentos automatizados)
9. Se a água desionizada não tiver um pH neutro, sugerimos a utilização de tampão fosfato, pH 7,2, N.º de Catálogo P 3288.
10. Devem incluir-se lâminas de controlo positivo em cada execução.
11. 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 – Manual)

1. Colocar aproximadamente 50 mL de CORANTE DE WRIGHT numa jarra de Coplin.
NOTA: MANTER O CORANTE DEVIDAMENTE TAPADO QUANTO NÃO ESTIVER A SER UTILIZADO. Substituir quando surgirem artefactos aquosos nos glóbulos vermelhos ou quando se verificar a formação de um precipitado.
2. Encher outra jarra de Coplin com água desionizada.
3. Colocar o esfregaço sanguíneo completamente seco, com a área em bisel para BAIXO, no CORANTE DE WRIGHT durante aproximadamente 15 segundos.
NOTA: Uma imersão rápida durante 5 a 10 segundos poderá reduzir os artefactos aquosos nos esfregaços que não estiverem completamente secos.
4. Retirar as lâminas do corante e colocar em água desionizada, com a área em bisel virada para BAIXO, durante aproximadamente 30 segundos. NÃO AGITAR A LÂMINA QUANDO ESTA ESTIVER EM ÁGUA DESIONIZADA.
5. Passar brevemente por água desionizada corrente e deixar secar bem ao ar antes de proceder à avaliação.

II. Método de coloração horizontal (Manual)

1. Colocar o esfregaço sanguíneo completamente seco num suporte de coloração apropriado.
2. Imergir a lâmina em 1 a 2 mL de CORANTE DE WRIGHT.
3. Após decorridos 30 segundos, sem lavar o corante de Wright do Passo 2, adicionar um volume igual de água desionizada e misturar, soprando suavemente sobre a lâmina.
4. Após 1 minuto, lavar completamente com água desionizada e deixar secar ao ar.

Coloração em lote com Hemastainer

- Definir os temporizadores de modo a que sejam obtidos os tempos seguintes para cada estação:
Estação 1 – 30 segundos
Estação 2 – 2 minutos
Estação 3 – 3,5 minutos
Estação 4 – 30 segundos
Estação 5 – Ignorar e passar para a “secagem ao ar”
- Preparar as estações da seguinte forma para o procedimento de coloração:
Estação 1 – Metanol absoluto, 500 mL
Estação 2 – Corante de Wright ACCUSTAIN, 350 mL e 150 mL de metanol absoluto
Estação 3 – 500 mL de tampão fosfato, pH 7,2
Estação 4 – 3,8 L de água desionizada e 100 mL de tampão fosfato
Estação 5 – Deixar vazia
- Ligar o interruptor de alimentação (ON).
- Colocar o interruptor Auto-Manual em MANUAL.
- Colocar o interruptor Right/Left (direita/esquerda) para LEFT (ESQUERDA).
- Colocar o interruptor de oscilação em ON.
- Colocar o interruptor da bomba em AUTO.
- Encher o cesto com esfregaços sanguíneos, que tenham secado completamente ao ar.
- Colocar o cesto no gancho e prender.
- Iniciar o processo, colocando o interruptor Auto/Manual em AUTO.
- Quando o ciclo estiver completo e a lâminas estiverem completamente secas, colocar o interruptor Auto/Manual em MANUAL. O cesto voltará, em seguida, para a posição inicial.

Coloração em lote com Stainmaster

Definir o programa da seguinte forma:

| Evento | Estação | Reagente | Tempo (Minutos) |
|--------|---------|---|-----------------|
| 1 | 1 | Metanol absoluto | 0,5 |
| 2 | 2 | Corante de Wright, modificado, N.º de Catálogo WS-128 | 1,5 |
| 3 | 3 | Tampão fosfato, N.º de Catálogo P 3288 | 1,0 |
| 4 | 6 | Água desionizada | 0,3 |
| 5 | 5 | Solução de lavagem 2, N.º de Catálogo RS 2 | 0,7 |
| 6 | 4 | Água desionizada | 0,3 |
| 7 | Seco | Ar | 5,0 |

Coloração em lote com Midas II

Definir o programa da seguinte forma:

| Passo | Banho | Reagente | Tempo (Segundos) |
|-------|-------|---|------------------------|
| 1 | 1 | Metanol absoluto | 30 |
| 2 | 2 | Corante de Wright, modificado, N.º de Catálogo WS-128 | 60–90 |
| 3 | 3 | Tampão fosfato, N.º de Catálogo P 3288 | 60 |
| 4 | 4 | Água desionizada corrente | 10 |
| 5 | Seco | Ar | 3 minutos ou até secar |

Os banhos não utilizados poderão ser omitidos.

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 claros 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 WS
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