

## AVSEDD ANVÄNDNING

Wright-färg är avsedd för användning vid färgning av blodfilmer eller benmärgsfilmer. Lösningarna är avsedda för "in vitro-diagnostik".

Wright-färg är en modifierad Romanowsky-färg, avsedd för differentiell färgning av cellulära blodceller. När blodfilmer behandlas enligt beskrivning här, får kärnan och cytoplasman i de vita blodkropparna en karakteristisk blå eller rosa färg. De renade färgerna i ACCUSTAIN-formuleringarna av Wright-färg eliminerar inkonsekvent färgning och ger reproducerbara kromogena respons från parti till parti.

Procedurerna i detta produktblad beskriver användningen av Wright-färg som en manuell doppfärg för användning i satsfärgningsapparat som t.ex. Hemastainer, tillverkad av Geometric Data, Midas II, tillverkad av EM Diagnostic Systems, Inc. och Fisher Stainmaster, tillverkad av Fisher Scientific.

## REAGENSER

### WRIGHT-FÄRG, MODIFIERAD, katalognummer WS

Wright-färg, modifierad 0,3 % v/v, buffrad vid pH 6,8 i metanol.

### SPECIELLA MATERIAL SOM BEHÖVS, MEN INTE MEDFÖLJER:

#### FOSFATBUFFERT, katalognummer P 3288

En blandning av natriumfosfat och kaliumfosfat, 0,0083 m/l, pH 7,2.

#### SKÖLJLÖSNING 2, katalognummer RS 2

Etanollösning, 18 %, av vätska. Innehåller 0,02 % natriumazid, tillsatt som konserveringsmedel.

#### METANOL, ACETONFRI, katalognummer M 1775

Mikroskop / Objektglas / Täckglas

### FÖRVARING OCH STABILITET:

Förvara Wright-lösningar i rumstemperatur (18–26 °C). Reagensens etikett visar utgångsdatum.

Förvara fosfatbuffert, sköljlösning 2 och metanol i rumstemperatur (18–26 °C).

Förvara arbetslösning av fosfatbuffert vid 2–8 °C. Värm före användning.

### FÖRSÄMRING:

Kasta Wright-färglösningar om utfällning bildas. Kasta den bruksfärdiga fosfatbuffertlösningen om grumlighet eller synlig bakteriell tillväxt är närvarande.

### BEREDNING:

Wright-färglösning tillhandahålls bruksfärdig, men Wright-färg kan spädas om det placeras på ett automatiskt instrument. Se nedanstående instruktioner.

Fosfatbuffert (P3288) bör beredas genom att späda 1 vial buffert med 3,8 liter avjoniserat vatten. Blanda väl för att lösa upp.

Metanol är bruksfärdig.

### FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER:

Normala försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser ska iaktas. Kasta avfall enligt lokala lagar och bestämmelser. Se Faktablad om materialsäkerhet för uppdaterad information om risker, faror eller säkerhet.

Amerikanska risk- och säkerhetsbestämmelser

Wright-färg är BRANDFARLIG och GIFTIG. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Irriterar ögon och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Sköljlösning 2 är BRANDFARLIG och FARLIG. Brandfarligt. Farligt vid förtäring. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddshandskar. Natriumazid kan reagera med bly- och kopparrör och bilda höexplosiva föreningar. Målorgan: nerver och lever.

Fosfatbuffert. Försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

Metanol är BRANDFARLIGT och GIFTIGT. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Giftigt: risk för mycket svåra bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Irriterar ögon och hud. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med huden. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten.

Risk- och säkerhetsbestämmelser enligt EU (försiktighet: substanserna är inte fullständigt testade ännu)

Wright-färg och metanol är MYCKET BRANDFARLIGA och GIFTIGA. Mycket brandfarligt. Giftigt vid inandning, hudkontakt och förtäring. Giftigt: risk för mycket svåra bestående hälsoskador vid inandning, hudkontakt och förtäring. Förpackningen förvaras väl tillsluten. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid olycksfall, illamående eller annan påverkan, kontakta omedelbart läkare. Visa om möjligt etiketten. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

Sköljlösning 2 är IRRITERANDE. Brandfarligt. Irriterar ögon, andningsorgan och hud. Förvaras åtskilt från antändningskällor – rökning förbjuden. Vid kontakt med ögon, spola genast med mycket vatten och kontakta läkare. Använd lämpliga skyddskläder och skyddshandskar.

Fosfatbuffert. Försiktighet: substansen är inte fullständigt testad ännu.

### PROVTAGNING:

Provtagningen bör utföras i enlighet med NCCLS dokument M29-A2. Ingen känd testmetod ger fullständig garanti för att blodprov eller vävnad inte överför infektion. Alla blodderivat och vävnadsprov bör därför anses vara potentiellt smittsamma.

Färska helblodsfilmers eller färska filmer från blod som antikoagulerats med EDTA måste användas. Före framställning av filmer måste blodet blandas väl vid rumstemperatur (18–26 °C). Filmerna bör framställas inom 1 timme efter blodinsamling. Om de inte färgas samma dag, bör objektglasen fixeras i ren metanol och förvaras i en dammfri behållare.

### ANMÄRKNINGAR:

1. För mer cellulära detaljer kan färgningstiden förlängas. Färgen (nyanser av blått eller rött) kan varieras genom att förlänga eller förkorta tiden i avjoniserat vatten.
2. Snabb (15 sekunder) färgning rekommenderas inte för benmärg. För dessa preparat ger 1–3 minuter i färg och 2–6 minuter i avjoniserat vatten tillfredställande resultat.
3. För satsfärgning rekommenderas objektglasställ och skålar, som t.ex. de som tillverkas av Miles Scientific for Tissue-Tek®, eftersom detta system medger vertikal placering av objektglasen.
4. Färgen kan varieras genom att förlänga eller förkorta tiden i avjoniserat vatten. Benmärg kan färgas i minst 90 sekunder och buffras i 90 sekunder till 3 minuter.
5. De färgningstider som beskrivs i ovan nämnda procedurer har givits tillfredställande resultat i våra laboratorier. Justeringar av dessa tider kan bestämmas efter individuella preferenser.
6. De manuella procedurerna kan också användas med Hemastainer, förutsatt att gungan är i läget "av".
7. Tidsberäkningen kan varieras för att passa individuella preferenser. (Automatiska procedurer)
8. Vattensköljningarna bör vara avjoniserat vatten. (Automatiska procedurer)
9. Om avjoniserat vatten inte har neutralt pH, föreslår vi användning av fosfatbuffert, pH 7,2, katalognummer P 3288.
10. Positiva kontrollobjektglas bör inkluderas i varje körning.
11. Data som erhållits från denna procedur tjänar endast som ett hjälpmedel vid diagnos och bör granskas tillsammans med andra kliniska, diagnostiska tester eller information.

### PROCEDUR:

#### I. Doppmetod (snabb – manuell)

1. Placera ca 50 ml WRIGHT-FÄRG i en Coplinburk.  
OBS: SE TILL ATT BURKEN ÄR VÄL FÖRSLUTEN NÄR DEN INTE ANVÄNDS. Byt när vattenartefakter framträder i röda blodkroppar eller när en utfällning syns.
2. Fyll en annan Coplinburk med avjoniserat vatten.
3. Placera fullständigt torkad blodfilm, med den "fjäderkanten" NEDÅT, i WRIGHT-FÄRG i ca 15 sekunder.  
OBS: Snabb dopning i 5–10 sekunder kan reducera vattenartefakter på filmer som inte är helt torra.
4. Ta ut objektglasen ur färgen och placera på avjoniserat vatten, med "fjäderkanten" NEDÅT, i ca 30 sekunder. SKAKA INTE OBJEKTGLASET MEDAN DET ÄR I AVJONISERAT VATTEN.
5. Skölj hastigt i rinnande avjoniserat vatten och lufttorka före utvärdering.

#### II. Horisontell färgningsmetod (manuell)

1. Placera fullständigt torkad blodfilm på ett lämpligt färgningsställ.
2. Dränk in objektglaset i 1–2 ml WRIGHT-FÄRG.
3. Efter 30 sekunder, utan att skölja av Wright-färgen från steg 2, tillsätts lika volym avjoniserat vatten och blandas väl genom att försiktigt blåsa på objektglaset.
4. Efter 1 minut, skölj väl med avjoniserat vatten och lufttorka.

#### Satsfärgning med Hemastainer

1. Ställ in tidtagaren för att ge följande tider för varje station:  
station 1 – 30 sekunder  
station 2 – 2 minuter  
station 3 – 3,5 minuter  
station 4 – 30 sekunder  
station 5 – hoppa över och gå till "lufttorka"
2. Förbered stationerna för färgning på följande sätt:  
station 1 – ren metanol, 500 ml  
station 2 – ACCUSTAIN Wright-färg, 350 ml och 150 ml ren metanol  
station 3 – 500 ml fosfatbuffert, pH 7,2  
station 4 – 3,8 l avjoniserat vatten och 100 ml fosfatbuffert  
station 5 – lämna tom
3. Ställ in strömbrytaren på ON.
4. Ställ in auto/manuell-reglaget på MANUAL.
5. Ställ in höger/vänster-reglaget på LEFT.
6. Ställ in gungreglaget på ON.
7. Ställ in pumpreglaget på AUTO.
8. Ladda korgen med fullständigt lufttorkade blodfilmer.
9. Fäst korgen vid hållaren och dra åt.
10. Starta processen genom att ställa in auto/manuell-reglaget på AUTO.
11. När cykeln är färdig och objektglasen är helt torra ställs auto/manuell-reglaget in på MANUAL. Korgen kommer då att återvända till startläge.

### Satsfärgning med Fisher Stainmaster

Ställ in programmet enligt följande:

Händelse	Station	Reagens	Tid (minuter)
1	1	Ren metanol	0,5
2	2	Wright-färg, modifierad, Katalognummer WS-128	1,5
3	3	Fosfatbuffert, Katalognummer P 3288	1,0
4	6	Avjoniserat vatten	0,3
5	5	Sköjlösning 2, Katalognummer RS 2	0,7
6	4	Avjoniserat vatten	0,3
7	Torka	Luft	5,0

### Satsfärgning med Midas II

Ställ in programmet enligt följande:

Steg	Bad	Reagens	Tid (sekunder)
1	1	Ren metanol	30
2	2	Wright-färg, modifierad, Katalognummer WS-128	60-90
3	3	Fosfatbuffert, Katalognummer P 3288	60
4	4	Rinnande avjoniserat vatten	10
5	Torka	Luft	3 minuter eller tills torr

Oanvända bad kan uteslutas.

---

## PRESTANDAEGENSKAPER

Kärnorna kommer att ha olika färgnyanser av purpur. Cytoplasmisk färgning kommer att ha olika färgnyanser av blått till rosa. Fina rödaktiga till lilafärgade granula kan finnas i cytoplasmat hos vissa celltyper. Basofila leukocyter kommer att uppvisa mörkblå-svarta granula i cytoplasmat. Eosinofila leukocyter kommer att uppvisa klarorange-färgade granula i cytoplasmat. Röda blodkroppar bör vara rosa- till rödfärgade.<sup>1</sup>

Om observerade resultat skiljer sig från förväntade resultat, kontakta Sigma-Aldrich tekniska service för assistans.

---

## REFERENSER

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

Sigma-Aldrich, Inc. garanterar att deras produkter överensstämmer med informationen i denna och andra Sigma-Aldrich-publikationer. Kunden måste avgöra produktens(ernas) lämplighet för deras speciella användning. Ytterligare villkor kan gälla. Se baksidan av fakturan eller packsedeln för ytterligare försäljningsvillkor.

Procedurnummer WS  
Föregående revidering: 2003-09  
Reviderad: 2010-06



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

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765  
Teknisk service: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 3122  
eller e-post till [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
För beställning: mottagaren betalar samtalet: +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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