

APLICACIÓN

La tinción de Wright se utiliza en la tinción de frotis de sangre o de médula ósea. Las soluciones son para "uso diagnóstico *in vitro*".

La tinción de Wright es una modificación de la tinción de Romanowsky que se utiliza en la tinción diferencial de elementos celulares de la sangre. Cuando los frotis de sangre se tratan de la forma aquí descrita, el núcleo de leucocitos y el citoplasma adoptan la coloración característica azul o rosa. Los colorantes purificados de las fórmulas ACCUSTAIN de la tinción de Wright eliminan la tinción inconsistente, produciendo respuestas cromogénicas reproducibles entre lotes.

Los procedimientos de este prospecto describen el uso de la tinción de Wright como una tinción por inmersión manual, o para ser utilizada con dispositivos para tinción de lotes, como el Hemastainer de Geometric Data, el Midas II de EM Diagnostic Systems, Inc., y el Fisher Stainmaster de Fisher Scientific.

REACTIVOS

TINCIÓN DE WRIGHT MODIFICADA, número de catálogo WS

Tinción de Wright modificada, 0,3 % p/v, tamponada a pH 6,8, en metanol.

TAMPÓN FOSFATO, número de catálogo P 3288

Una mezcla de fosfato sódico y fosfato potásico, 0,0083 m/l, pH 7,2.

SOLUCIÓN DE ACLARADO 2, número de catálogo RS 2

Solución de etanol, 18 %, con agente humectante. Contiene azida sódica al 0,02 % como conservante.

METANOL SIN ACETONA, número de catálogo M 1775

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD:

Almacenar las soluciones de Wright a temperatura ambiente (18–26 °C). La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad.

Almacenar el tampón fosfato, la solución de aclarado 2 y el metanol a temperatura ambiente (18–26 °C).

Almacenar la solución de trabajo de tampón fosfato a 2–8 °C. Calentar antes de su uso.

DETERIORO:

Desechar las soluciones de tinción de Wright si se desarrolla precipitado. Desechar la solución de trabajo de tampón fosfato si presenta turbidez o crecimiento bacteriano.

PREPARACIÓN:

La solución de tinción de Wright se suministra lista para su uso, aunque la tinción de Wright puede diluirse si se usa con un instrumento automático. Consulte las instrucciones siguientes.

El tampón fosfato (P3288) debe prepararse diluyendo 1 vial de tampón en 3,8 litros de agua desionizada. Mezclar bien hasta su disolución.

El metanol está listo para su uso.

PRECAUCIONES:

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Deshacerse de los desechos observando todas las normativas locales, regionales y nacionales. Consultar la Hoja de datos de seguridad del material para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

Declaración de riesgos y seguridad (EE.UU.)

La tinción de Wright es **INFLAMABLE** y **TÓXICA**. Tóxica por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejada de las llamas – no fumar. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

La solución de aclarado 2 es **COMBUSTIBLE** y **PERJUDICIAL**. Inflamable. Perjudicial en caso de ingestión. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Llevar guantes adecuados. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar compuestos altamente explosivos. Órganos a los que afecta: nervios e hígado.

Tampón fosfato. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

El metanol es **INFLAMABLE** y **TÓXICO**. Tóxico por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxico: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Irritante para los ojos y la piel. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejado de las llamas – no fumar. Tomar medidas cautelares contra descargas de electricidad estática. Evitar el contacto con la piel. Usar ropa y guantes protectores adecuados. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible).

Declaración de riesgos y seguridad (U.E.) (Precaución: sustancias en proceso de prueba)

La tinción de Wright y el metanol son **ALTAMENTE INFLAMABLES** y **TÓXICOS**. Altamente inflamables. Tóxicos por inhalación, en contacto con la piel y en caso de ingestión. Tóxicos: peligro de efectos irreversibles muy graves por inhalación, por contacto con la piel y en caso de ingestión. Mantener el envase bien cerrado. Mantener alejados de las llamas – no fumar. En caso de accidente o de malestar, buscar atención médica inmediatamente (mostrar la etiqueta si es posible). Usar ropa y guantes protectores adecuados.

La solución de aclarado 2 es **IRRITANTE**. Inflamable. Irritante para los ojos, sistema respiratorio y piel. Mantener alejada de las llamas – no fumar. En caso de contacto con los ojos, enjuagar inmediatamente con agua abundante y buscar atención médica. Usar ropa y guantes protectores adecuados.

Tampón fosfato. Precaución: sustancia en proceso de prueba.

PROCEDIMIENTO

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS:

Se recomienda que la recogida de las muestras se lleve a cabo de acuerdo con las directrices del documento M29-A2 de la NCCLS. Ningún método de prueba puede garantizar la completa seguridad de que las muestras de sangre o tejido no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Deben utilizarse frotis frescos de sangre total o frotis frescos procedentes de sangre anticoagulada con EDTA. Antes de preparar los frotis, la sangre debe mezclarse bien a temperatura ambiente (18–26 °C). Los frotis deben prepararse dentro de 1 hora tras la recogida de sangre. Si no se realiza la tinción el mismo día, los portaobjetos deberán fijarse en metanol absoluto y almacenarse en un recipiente a prueba de polvo.

MATERIAL ESPECIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

Microscopio
Portaobjetos
Cubreobjetos

NOTAS:

1. Para obtener más detalles de las células, el tiempo de tinción puede aumentarse. El color (tonos de azul o rojo) puede variarse aumentando o disminuyendo el tiempo en agua desionizada.
2. La tinción rápida (15 segundos) no es recomendable para muestras de médula ósea. Para esas preparaciones, de 1 a 3 minutos de tinción y de 2 a 6 minutos en agua desionizada dará resultados satisfactorios.
3. Para la tinción de lotes, se recomiendan gradillas de portaobjetos y platos como los que suministra Miles Scientific para Tissue-Tek®, ya que este sistema permite la colocación vertical de los portaobjetos.
4. El color puede variarse aumentando o disminuyendo el tiempo en agua desionizada. La médula ósea debe teñirse durante al menos 90 segundos y tamponarse entre 90 segundos y 3 minutos.
5. Los tiempos de tinción descritos en los procedimientos indicados han dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias individuales pueden dictar los ajustes de estos tiempos.
6. Los tiempos del procedimiento manual también pueden utilizarse con el Hemastainer, siempre que el vaivén esté inactivado.
7. Los tiempos pueden variar según las preferencias individuales (procedimientos automáticos).
8. Los aclarados deben realizarse con agua desionizada (procedimientos automáticos).
9. Si el pH del agua desionizada no es neutro, sugerimos el uso de tampón fosfato, pH 7,2, número de catálogo P 3288.
10. En cada proceso se deben incluir portaobjetos de control positivo.
11. Los datos obtenidos mediante este procedimiento sólo sirven como ayuda en el diagnóstico y deben ser revisados junto con otras pruebas clínicas o información de diagnóstico.

PROCEDIMIENTO:

I. Método de inmersión (rápido – manual)

1. Colocar unos 50 ml de TINCIÓN DE WRIGHT en un vaso de Coplin.
NOTA: MANTENER HERMÉTICAMENTE CERRADO CUANDO NO SE UTILICE. Sustituir si aparecen artefactos acuosos en los hematíes o si hay evidencia de precipitado.
2. Llenar otro vaso de Coplin con agua desionizada.
3. Poner un frotis de sangre completamente seco, con el borde más fino hacia ABAJO, en TINCIÓN DE WRIGHT durante aproximadamente 15 segundos.
NOTA: Una rápida inmersión durante 5–10 segundos puede reducir los artefactos acuosos en los frotis que no estén completamente secos.
4. Retirar los portaobjetos de la solución de tinción y lavarlos con agua desionizada, con el borde más fino hacia ABAJO, durante 30 segundos. NO AGITAR EL PORTAOBJETOS MIENTRAS ESTÁ EN AGUA DESIONIZADA.
5. Aclarar brevemente con agua desionizada CORRIENTE y secar bien al aire antes de la evaluación.

II. Método de tinción horizontal (manual)

1. Colocar los frotis de sangre completamente secos, en la gradilla de tinción adecuada.
2. Cubrir el portaobjetos con 1–2 ml de TINCIÓN DE WRIGHT.
3. Tras 30 segundos y sin limpiar la tinción de Wright del paso 2, añadir un volumen igual de agua desionizada y mezclar bien soplando con cuidado sobre el portaobjetos.
4. Tras 1 minuto, aclarar bien con agua desionizada y secar al aire.

Tinción de lotes con el Hemastainer

1. Programar los temporizadores de cada estación en los siguientes tiempos:
Estación 1 – 30 segundos
Estación 2 – 2 minutos
Estación 3 – 3,5 minutos
Estación 4 – 30 segundos
Estación 5 – Omitir e ir al "secado con aire"
2. Preparar las estaciones para tinción, de la siguiente forma:
Estación 1 – Metanol absoluto, 500 ml
Estación 2 – Tinción de Wright ACCUSTAIN, 350 ml y 150 ml de metanol absoluto
Estación 3 – 500 ml de tampón fosfato, pH 7,2
Estación 4 – 3,8 litros de agua desionizada y 100 ml de tampón fosfato
Estación 5 – Dejarla vacía

3. Poner el interruptor de encendido en posición ON.
4. Poner el interruptor Auto-Manual (automático-manual) en MANUAL.
5. Poner el interruptor Right/Left (derecha/izquierda) en LEFT (izquierda).
6. Poner el interruptor basculante en ON.
7. Poner el interruptor de la bomba en AUTO.
8. Cargar el cesto con portaobjetos totalmente secados con aire.
9. Poner el cesto en el colgador y sujetarlo.
10. Empezar el proceso poniendo el interruptor Auto/Manual en AUTO.
11. Cuando se haya completado el ciclo y los portaobjetos estén totalmente secos, poner el interruptor Auto/Manual en MANUAL. El cesto regresará a la posición inicial.

Tinción de lotes con el Fisher Stainmaster

Programar como sigue:

Suceso	Estación	Reactivo	Tiempo (Minutos)
1	1	Metanol absoluto	0,5
2	2	Tinción de Wright modificada Número de catálogo WS-128	1,5
3	3	Tampón fosfato, Número de catálogo P 3288	1,0
4	6	Agua desionizada	0,3
5	5	Solución de aclarado 2, Número de catálogo RS 2	0,7
6	4	Agua desionizada	0,3
7	Aire	Seco	5,0

Tinción de lotes con el Midas II

Programar como sigue:

Paso	Baño	Reactivo	Tiempo (Segundos)
1	1	Metanol absoluto	30
2	2	Tinción de Wright modificada Número de catálogo WS-128	60-90
3	3	Tampón fosfato, Número de catálogo P 3288	60
4	4	Agua desionizada corriente	10
5	Aire	Seco	3 minutos o hasta que estén secos

Pueden omitirse los baños no utilizados.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Los núcleos se teñirán en diferentes tonos de púrpura. El citoplasma se teñirá en diferentes tonos de azul a rosa claro. El citoplasma de algunas células puede presentar gránulos finos de rojizos a lila. Los basófilos demostrarán gránulos azul oscuro-negros en el citoplasma. Los eosinófilos demostrarán gránulos naranja brillante en el citoplasma. Los hematíes deben mostrar un color de rosa a naranja¹.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Sigma-Aldrich.

REFERENCIAS

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

Sigma-Aldrich, Inc. garantiza que sus productos concuerdan con la información contenida en ésta y otras publicaciones de Sigma-Aldrich. El comprador debe determinar la idoneidad de los productos para su uso particular. Es posible que deban aplicarse términos y condiciones adicionales. En el reverso de la factura o del albarán se incluyen los términos adicionales y las condiciones de venta.

Procedimiento número WS
Revisión anterior: 2003-03
Revisión: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 EE.UU. +1 314 771 5765

Servicio Técnico: a cobro revertido al +1 314 771 3122

o por correo electrónico a clintech@sial.com

Para realizar pedidos: a cobro revertido al +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

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