

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η Χρωστική Wright προορίζεται για χρήση στη χρώση λεπτών στρώσεων αίματος ή μυελού των οστών. Τα διαλύματα είναι για "Διαγνωστική Χρήση In Vitro."

Η χρωστική Wright είναι τροποποιημένη χρωστική Romanowsky που προορίζεται για διαφορική χρώση των κυτταρικών στοιχείων του αίματος. Όταν στρώσεις αίματος αντιμετωπίζονται, όπως περιγράφεται εδώ, οι πυρήνες και το κυτταρόπλασμα των λευκών αιμοσφαιρίων παρουσιάζουν χαρακτηριστικό γαλάζιο ή ροδίνο χρώμα. Οι καθαρισμένες χρωστικές στο σκεύασμα ACCUSTAIN της χρώσης Wright εξαλείφουν την ασυνεπή χρώση και αποφέρουν ομοιογενή απόκριση επαναληψιμότητας μεταξύ παρτίδων.

Οι διαδικασίες στο παρόν ένθετο περιγράφουν τη χρήση της χρωστικής Wright ως χρωστική χειροκίνητης εμφάπτισης ή για χρήση σε συσκευές χρώσης κατά παρτίδες, όπως το Hemastainer που παρέχεται από τη Geometric Data, το Midas II που παρέχεται από τη EM Diagnostic Systems, Inc. και το Fisher Stainmaster που παρέχεται από τη Fisher Scientific.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΧΡΩΣΗ WRIGHT, Αρ. Καταλόγου WS

Χρωστική Wright τροποποιημένη 0,3 % w/v, ρυθμισμένη σε pH 6,8 σε μεθανόλη.

ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΦΩΣΦΟΡΙΚΩΝ, Αρ. Καταλόγου P 3288

Μείγμα φωσφορικού νάτριου και φωσφορικού καλίου 0,0083 M/L, pH 7,2.

ΔΙΑΛΥΜΑ ΕΚΠΛΥΣΗΣ 2, Αρ. Καταλόγου RS 2

Διάλυμα αιθανόλης 18 %, υλικού διάβρωσης. Περιέχει 0,02 %, αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό.

ΜΕΘΑΝΟΛΗ, ΕΛΕΥΘΕΡΗ ΑΚΕΤΟΝΗΣ, Αρ. Καταλόγου M 1775

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ:

Αποθηκεύστε τα διαλύματα Wright σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C). Οι ετικέτες αντιδραστηρίων φέρουν ημερομηνία λήξης.

Αποθηκεύστε το Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης φωσφορικών 2 και τη μεθανόλη σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C).

Αποθηκεύστε το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών εργασίας στους 2-8 °C. Θερμάνετε πριν τη χρήση.

ΑΠΟΣΥΝΘΕΣΗ:

Απορρίψτε τα διαλύματα χρωστικής Wright αν προκύψει ίζημα. Απορρίψτε το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών εργασίας αν υπάρχει θολερότητα ή ορατή βακτηριακή ανάπτυξη.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ:

Το διάλυμα χρωστικής Wright παρέχεται έτοιμο προς χρήση, παρόλο που η χρωστική Wright μπορεί να αραιωθεί αν τοποθετηθεί σε αυτοματοποιημένο όργανο. Βλ. οδηγίες που ακολουθούν.

Το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (P3288) πρέπει να παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 φιαλίδιο ρυθμιστικού διαλύματος σε 3,8 λίτρα απιονισμένου νερού. Αναμίξτε καλά για να διαλυθεί.

Η μεθανόλη είναι έτοιμη προς χρήση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνηθισμένες προφυλάξεις που εφαρμόζονται κατά το χειρισμό αντιδραστηρίων στο εργαστήριο. Απορρίψτε τα απόβλητα λαμβάνοντας υπόψη όλους τους τοπικούς, κρατικούς, επαρχιακούς ή εθνικούς κανονισμούς. Ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού για οποιεσδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνου, ατυχήματος ή ασφάλειας.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στις Η.Π.Α.

Η χρωστική Wright είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΤΟΞΙΚΗ. Τοξική κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν την καταπιείτε. Ερεθιστική για τα μάτια και το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε τη μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Το διάλυμα έκπλυσης 2 είναι ΕΥΦΛΕΚΤΟ και ΒΛΑΒΕΡΟ. Εύφλεκτο. Βλαβερό αν καταποθεί. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλα γάντια. Τα ντραζίδιο ενδέχεται να αντιδράσει με το μόλυβδο και το χαλκό και να σχηματίσει ιδιαίτερα εκρηκτικές ενώσεις. Όργανα στόχοι: Νεύρα και ήπαρ.

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

Η μεθανόλη είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΤΟΞΙΚΗ. Τοξική κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν την καταπιείτε. Τοξική: Κίνδυνος πολύ σοβαρών μη αντιστρεψιμων επιπτώσεων μέσω εισπνοής, επαφής με το δέρμα και κατάποσης. Ερεθιστική για τα μάτια και το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε τη μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Λάβετε προληπτικά μέτρα κατά των στατικών εκφορτίσεων. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στην ΕΕ (Προσοχή: Οι ουσίες αυτές δεν έχουν δοκιμαστεί ακόμα πλήρως)

Η χρωστική Wright και η μεθανόλη είναι ΠΟΛΥ ΕΥΦΛΕΚΤΕΣ και ΤΟΞΙΚΕΣ. Πολύ εύφλεκτα. Τοξικά κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν τα καταπιείτε. Τοξικά: Κίνδυνος πολύ σοβαρών μη αντιστρεψιμων επιπτώσεων αν ληφθούν με εισπνοή, επαφή με το δέρμα και αν τα καταπιείτε. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε τα μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια.

Το Διάλυμα Έκπλυσης 2 είναι ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΟ. Εύφλεκτο. Ερεθιστικό για τα μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης - μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια.

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών. Προσοχή: Η ουσία αυτή δεν έχει δοκιμαστεί ακόμα πλήρως.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Συνιστάται η συλλογή δειγμάτων να διεξάγεται σύμφωνα με το έγγραφο M29-A2 του NCCLS. Καμία γνωστή μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ισοστά δεν μεταδίδουν λοιμώξεις. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή δείγματα ιστών πρέπει να θεωρούνται ενδεχομένως λοιμώδη.

Πρέπει να χρησιμοποιούνται κωπές στρώσεις συνολικού αίματος ή κωπές στρώσεις αίματος, χρησιμοποιώντας EDTA ως αντιπηκτικό. Πριν την παρασκευή των στρώσεων αίματος, το αίμα πρέπει να αναμιγνύεται πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C). Οι στρώσεις πρέπει να παρασκευάζονται εντός 1 ώρας από τη συλλογή αίματος. Αν δεν χρωματιστούν την ίδια μέρα, οι αντικειμενοφόροι πρέπει να στερεώνονται σε απόλυτη μεθανόλη και να αποθηκεύονται σε δοχείο χωρίς σκόνη.

ΕΙΔΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

Μικροσκόπιο
Αντικειμενοφόροι
Καλυπτρίδες

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

- Για περισσότερες λεπτομέρειες στο κύτταρο, μπορείτε να αυξήσετε το χρόνο χρώσης. Το χρώμα (τόνοι του μπλε και κόκκινου) είναι δυνατόν να ποικίλει αυξάνοντας ή μειώνοντας το χρόνο παραμονής σε απιονισμένο νερό.
- Η σύντομη (15 δευτερόλεπτα) χρώση δεν συνιστάται για μινερό των οστών. Για τα παρασκευάσματα αυτά, παραμονή επί 1-3 λεπτά στη χρωστική και 2-6 λεπτά σε απιονισμένο νερό δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα.
- Για χρώση κατά παρτίδες, συνιστώνται στατώ αντικειμενοφόρων και τρυβλία σαν εκείνα που παρέχονται από τη Miles Scientific για Tissue-Tek® αφού το σύστημα αυτό επιτρέπει την κάθετη τοποθέτηση των αντικειμενοφόρων.
- Το χρώμα μπορεί να ποικίλει αυξάνοντας ή μειώνοντας το χρόνο παραμονής σε απιονισμένο νερό. Οι μινερό των οστών πρέπει να χρωματίζονται επί τουλάχιστον 90 δευτερόλεπτα και να παραμένουν στο ρυθμιστικό διάλυμα επί 90 δευτερόλεπτα έως 3 λεπτά.
- Οι χρόνοι χρώσης που περιγράφονται στις παραπάνω διαδικασίες έχουν δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα στα εργαστήριά μας. Οι ατομικές προτιμήσεις είναι δυνατόν να υπαγορευθούν την προσαρμογή των χρόνων αυτών.
- Οι χρόνοι χειροκίνητης διαδικασίας είναι πιθανόν να χρησιμοποιηθούν και με το Hemastainer δεδομένου ότι η αιώρηση είναι απενεργοποιημένη.
- Ο χρόνος μπορεί να μεταβάλλεται για να ικανοποιήσει τις ατομικές προτιμήσεις. (Αυτοματοποιημένες διαδικασίες)
- Οι εκπλύσεις πρέπει να γίνονται με απιονισμένο νερό. (Αυτοματοποιημένες διαδικασίες)
- Αν το απιονισμένο νερό δεν έχει ουδέτερο pH, προτείνουμε τη χρήση Ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών με pH 7,2, Αρ. Καταλόγου P 3288.
- Θετικές αντικειμενοφόροι μάρτυρες πρέπει να συμπεριλαμβάνονται σε κάθε εκτέλεση.
- Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη διαδικασία αυτή εξυπηρετούν μόνο ως βοήθημα στη διάγνωση και πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

I. Μέθοδος εμφάπτισης (Γρήγορη- Χειροκίνητη)

- Τοποθετήστε περίπου 50 ml ΧΡΩΣΗ WRIGHT σε δοχείο Coplin.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: ΔΙΑΤΗΡΗΣΤΕ ΚΑΛΑ ΣΦΡΑΓΙΣΜΕΝΟ ΟΤΑΝ ΔΕΝ ΤΟ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΕ. Αντικαταστήστε όταν εμφανίζονται τεχνουργήματα σε ερυθροκύτταρα ή όταν υπάρχει ίζημα.
- Γεμίστε ένα άλλο δοχείο Coplin με απιονισμένο νερό.
- Τοποθετήστε καλά ξηραμένη στρώση αίματος, με την αραή περιολή του επιχρίσματος προς τα ΚΑΤΩ, σε ΧΡΩΣΤΙΚΗ WRIGHT επί 15 δευτερόλεπτα περίπου.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η σύντομη εμφάπτιση επί 5-10 δευτερόλεπτα είναι πιθανόν να μειώσει τα τεχνουργήματα νερού στις στρώσεις που δεν έχουν ξηραθεί καλά.
- Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από τη χρωστική και τοποθετήστε σε απιονισμένο νερό, με την αραή περιολή του επιχρίσματος προς τα ΚΑΤΩ, επί περίπου 30 δευτερόλεπτα. ΜΗΝ ΑΝΑΚΙΝΕΙΤΕ ΤΗΝ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟ ΕΝΩ ΒΡΙΣΚΕΤΑΙ ΣΤΟ ΑΠΙΟΝΙΣΜΕΝΟ ΝΕΡΟ.
- Ξεπλύνετε σύντομα σε τρεχούμενο απιονισμένο νερό και ξηράνετε πλήρως στον αέρα πριν την αξιολόγηση.

II. Μέθοδος Οριζόντιας Χρώσης (Χειροκίνητη)

1. Τοποθετήστε την καλά ξηραμένη στρώση αίματος σε κατάλληλο στατώ αντικειμενοφόρων.
2. Γεμίστε την αντικειμενοφόρο με 1-2 ml ΧΡΩΣΤΙΚΗΣ WRIGHT.
3. Μετά από 30 δευτερόλεπτα, χωρίς να ξεπλύνετε στη χρωστική Wright από το Βήμα 2, προσθέστε ισοδύναμο όγκο απιονισμένου νερού και αναμίξτε επιμελώς φυσώντας απαλά πάνω στην αντικειμενοφόρο.
4. Μετά από 1 λεπτό, ξεπλύνετε πλήρως με απιονισμένο νερό και ξηράνετε στον αέρα.

Χρώση κατά παρτίδες με Hemastainer

1. Ρυθμίστε τα χρονόμετρα να δώσουν τους ακόλουθους χρόνους για κάθε σταθμό:
Σταθμός 1 - 30 δευτερόλεπτα
Σταθμός 2 - 2 δευτερόλεπτα
Σταθμός 3 - 3,5 δευτερόλεπτα
Σταθμός 4 - 30 δευτερόλεπτα
Σταθμός 5 - Παραλείψτε και προχωρήστε στην "Ξήρανση αέρα"
2. Ετοιμάστε τους σταθμούς για τη χρώση με τον ακόλουθο τρόπο:
Σταθμός 1 - Απόλυτη μεθανόλη, 500 ml
Σταθμός 2 - Χρώση ACCUSTAIN Wright, 350 ml και 150 ml Απόλυτης μεθανόλης
Σταθμός 3 - 500 ml Ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών, pH 7,2
Σταθμός 4 - 3,8 L απιονισμένου νερού και 100 ml ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών
Σταθμός 5 - Αφήστε άδειο
3. Στρέψτε το διακόπτη ισχύος στο ON.
4. Ρυθμίστε το διακόπτη Auto-Manual στο MANUAL (ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΟΣ).
5. Ρυθμίστε το διακόπτη Right/Left (Αριστερά/Δεξιά) στο LEFT (ΑΡΙΣΤΕΡΑ).
6. Στρέψτε το διακόπτη αιώρησης στο ON.
7. Στρέψτε το διακόπτη άντλησης στο AUTO.
8. Φορτώστε το καλάθι με τις στρώσεις αίματος που έχουν ξηραθεί εντελώς στον αέρα.
9. Προσαρτήστε το καλάθι στον αναρτήρα και σφίξτε.
10. Ξεκινήστε την επεξεργασία ρυθμίζοντας το διακόπτη Auto/Manual (Αυτόματος/Χειροκίνητος) στο AUTO.
11. Όταν ολοκληρωθεί ο κύκλος και οι αντικειμενοφόροι στεγνώσουν εντελώς, ρυθμίστε το διακόπτη Auto/Manual στο MANUAL. Τότε το καλάθι επιστρέφει στη θέση έναρξης.

Χρώση κατά παρτίδες με το Fisher Stainmaster

Ρυθμίστε το πρόγραμμα με τον ακόλουθο τρόπο:

Συμβάν	Σταθμός	Αντιδραστήριο	Χρόνος (Λεπτά)
1	1	Απόλυτη Μεθανόλη	0,5
2	2	Τροποποιημένη χρωστική Wright, Αρ. Καταλόγου WS-128	1,5
3	3	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, Αρ. Καταλόγου P 3288	1,0
4	6	Απιονισμένο νερό	0,3
5	5	Διάλυμα έκπλυσης 2, Αρ. Καταλόγου RS 2	0,7
6	4	Απιονισμένο νερό	0,3
7	Ξήρανση	Αέρας	5,0

Χρώση κατά παρτίδες με το Midas II

Ρυθμίστε το πρόγραμμα με τον ακόλουθο τρόπο:

Βήμα	Λουτρό	Αντιδραστήριο	Χρόνος (Δευτερόλεπτα)
1	1	Απόλυτη Μεθανόλη	30
2	2	Τροποποιημένη χρωστική Wright, Αρ. Καταλόγου WS-128	60-90
3	3	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, Αρ. Καταλόγου P 3288	60
4	4	Τρεχούμενο απιονισμένο νερό	10
5	Ξήρανση	Αέρας	3 λεπτά ή μέχρι να ξηραθεί

Τα μη χρησιμοποιημένα λουτρά μπορούν να παραλειφθούν.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Οι πυρήνες εμφανίζουν διάφορες αποχρώσεις του πορφυρού. Η χρώση του κυτταροπλάσματος εμφανίζει διάφορες αποχρώσεις από μπλε έως ανοιχτό ρόδινο. Λεπτοί κοκκινωποί έως βιολετί κόκκοι ενδέχεται να υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα κάποιων τύπων κυττάρων. Τα βασεόφιλα εμφανίζουν σκούρους μπλε-μαύρους κόκκους στο κυτταρόπλασμά τους. Τα ηωσινόφιλα εμφανίζουν κόκκους ανοιχτού πορτοκαλί χρώματος στο κυτταρόπλασμά τους. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια πρέπει να εμφανίσουν με ρόδινο ως πορτοκαλί χρώμα.¹

Αν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αποκλίνουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

SIGMA-ALDRICH, INC.

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

Τεχνική υπηρεσία: χρωστική κλήση +1 314 771 3122

ή e-mail στο clintech@sial.com

Για παραγγελία: χρωστική κλήση +1 314 771 5750

www.sigma-aldrich.com

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

Η Sigma-Aldrich, Inc. εγγυάται ότι τα προϊόντα της συμμορφώνονται με τις πληροφορίες που περιέχονται σε αυτή και σε άλλες εκδόσεις της Sigma-Aldrich. Ο αγοραστής πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα του(ων) προϊόντος(ων) για τη συγκεκριμένη χρήση τους. Πιθανόν να ισχύουν πρόσθετοι όροι και συνθήκες. Βλ. αντίστροφη πλευρά του τιμολογίου ή της ταινίας συσκευασίας για επιπλέον όρους και συνθήκες πώλησης.

Αρ. Διαδικασίας WS
Προηγούμενη αναθεώρηση: 2003-03
Αναθεωρημένη: 2003-09



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