



USO PREVISTO

La coloración Giemsa es utilizada para el diagnóstico celular y se emplea en el examen de muestras de origen humano. Se trata de una coloración que junto con otros materiales de diagnóstico in vitro, hace evaluables determinadas estructuras en material de examen hematológico e histológico humano y clínico-citológico.

PRINCIPIO

El típico color de los núcleos celulares, mayoritariamente rojo púrpura, se basa en la interacción molecular entre eosina y un complejo azul B – ADN. Ambos colorantes forman el complejo. La intensidad de la coloración depende del contenido de azul B y de la relación entre azul B y eosina amarilla. El resultado de tinción puede ser influido por diferentes factores como el valor del pH de la solución y de la solución tampón, las sustancias tampón (amortiguadores), el tiempo de tinción y la fijación.

CONTENIDOS

R 1 **COLORANTE DE GIEMSA** – Listo para su uso
Azul eosina azul de metileno según Giemsa, Glicerina, Alcohol metílico.

R 2 **BUFFER FOSFATADO GOTA GRUESA GIEMSA**
-Listo para su uso
Di-Sodio hidrogenofosfato, Potasio Di-hidrogenofosfato, Agua desmineralizada tipo II

R 3 **AZUL DE METILENO FOSFATADO** – Listo para su uso
Azul de Metileno, Di-sodio hidrogenofosfato anhidro, Potasio Di-hidrogenofosfato, Agua desmineralizada tipo II

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Las soluciones deben almacenarse entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz. Después de abierto el contenido almacenado entre 15°C y 30°C y protegidos de la luz es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Temperaturas inferiores a 15°C puede precipitar colorantes de las soluciones colorantes.
- Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La solución R1 Colorante de Giemsa y la solución R3 Azul de Metileno Fosfatado son irritantes en contacto con piel, ojos y mucosas.
- La solución R1 Colorante de Giemsa a causa del contenido en metanol es tóxico e inflamable, por lo tanto se deben tomar los cuidados requeridos para el manejo de productos inflamables en el laboratorio.
- Observe la simbología en los rótulos de las soluciones.

- Las soluciones usadas y las caducadas deben eliminarse como desechos especiales, debiendo cumplir las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos.

MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Microscopio
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Cubeta de coloración
- Frasco lavador
- Agua
- Alcohol metílico
- Cronometro y/o timer

MUESTRAS

Se deben usar láminas nuevas y pre-lavadas con alcohol al 96% para quitar la grasa.

Se toman dos (2) láminas, una para la gota gruesa y la otra para el extendido, se limpia el dedo del paciente con Alcohol, y deja secar.

Se realiza la punción, la primera gota se descarta y con las láminas se recoge una sola gota en cada una de ellas. (No se debe tocar la piel con la lámina). En una de las placas se hacen movimientos circulares hasta alcanzar un diámetro de 1 cm para la gota gruesa, en la otra lamina se hace un extendido delgado y corto.



Toda muestra biológica debe ser considerada como potencialmente infecciosa.

PROCEDIMIENTO GOTA GRUESA

- Se deja secar la lamina durante 20 minutos.
- Se deshemoglobina con Azul de Metileno Fosfatado, sumergiendo la lamina por 5 segundos y se lava varias veces con buffer fosfatado.
- Se deja secar la lámina.
- Realizar la Coloración Giemsa preparando 1 gota de Colorante y 1 mL de Buffer (Aprox. 3 ml por cada lamina). Se colorea la lámina 15 minutos boca abajo.
- Lavar suavemente con agua corriente. Eliminar el exceso de agua.
- Dejar secar al aire.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

PROCEDIMIENTO DEL EXTENDIDO

- Se deja secar la lámina durante 10 minutos.
- Se fija el extendido con alcohol metílico durante 3 a 5 minutos y se deja secar.
- Se realiza la Coloración Giemsa que se prepara 2 gotas de Giemsa y 1 mL de Buffer Fosfatado (Aprox. 3 mL por cada lámina).
- Se colorea la lámina boca abajo durante 30 minutos.
- lavar suavemente con agua corriente. Eliminar el exceso de agua.
- Dejar secar al aire.
- Examinar al microscopio con lente de inmersión de 100X.

LA GOTA GRUESA SE USA PARA VER LA CONCENTRACIÓN DEL PARÁSITO Y EL EXTENDIDO PARA VER LA ESPECIE.

NOTAS SOBRE EL EMPLEO

La técnica descrita anteriormente ha dado resultados satisfactorios en nuestros laboratorios. Las preferencias de color individuales pueden precisar ligeros ajustes de los tiempos.

RESULTADOS PREVISTOS

Tipo de célula	Resultado
Parásitos sanguíneos	Núcleo rojo citoplasma del protozoo azul
Linfocitos	Núcleo azul violeta citoplasma azul
Monolitos	Núcleo (lobulado) azul violeta citoplasma azul claro
Granulocitos neutrófilos	Núcleo azul oscuro citoplasma rosa pálido gránulos tono rosado a azul claro
Granulocitos eosinófilos	Núcleo azul citoplasma rosa pálido gránulos rojo ladrillo
Granulocitos basófilos	Núcleo purpura a azul oscuro gránulos azul oscuro-negros
Trombocitos (Plaquetas)	Azul
Eritrocitos	Rojizo

CONTROL DE CALIDAD












El control de calidad se debe llevar a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. El control de calidad en la microscopía de extendidos sanguíneos depende directamente de la formación y experiencia del profesional que validara la calidad de los extendidos, coloración, etc..

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Agua altamente clorada puede debilitar la coloración de contraste.

BIBLIOGRAFÍA

1.Hematology: Principles and Procedures, Sixth Edition, Brown AB, Lea & Febiger, Philadelphia 1993 p101
2.Clark, George, Stains and staining (Microscopy), 4ª edition, Williams & Wilkins, (1981).

Índice de Símbolos					
	Producto para diagnóstico in-vitro		Referencia o Código		Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Límite de Temperatura		Riesgo Biológico		



ESPECIALIDADES
Diagnósticas IHR

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia
PBX: +(2) 3989788
e-mail: servicioalcliente@ihrdiagnostica.com
www.ihrdiagnostica.com