

1.16300.0002

Μικροσκοπία

LEUCOGNOST® ALPA

Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής φωσφατάσης
λευκοκυττάρων σε λευκοκύτταρα



In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Κιτ κυτταροχημικών αντιδραστηρίων για τη διάγνωση λευχαιμίας
Το κιτ «LEUCOGNOST® ALPA – Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης σε λευκοκύτταρα» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και εξυπηρετεί τον σκοπό της αιματολογικής και κυτταρολογικής διερεύνησης υλικού δείγματος ανθρώπινης προέλευσης. Πρόκειται για ένα κιτ χρώσης που, όταν χρησιμοποιείται με άλλα in vitro διαγνωστικά προϊόντα από το χαρτοφυλάκιό μας, κάνει τις δομές-στόχους σε υλικά αιματολογικών και κλινικο-κυτταρολογικών δειγμάτων (για παράδειγμα επιχρίσματα πλήρους αίματος και μυελού των οστών) αξιολογήσιμες για διαγνωστικούς σκοπούς, μέσω μονιμοποίησης, χρώσης, όπου χρειάζεται αντιχρώσης και στερέωσης. Αυτό το κιτ χρώσης έχει σχεδιαστεί για την αντίδραση στο δοχείο Hellendahl των 60 ml και περιέχει όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για την ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης (ALPA) σε λευκοκύτταρα.

Αρχή της μεθόδου

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας (δείκτης) αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης είναι κατάλληλος για την κυτταροχημική διαφοροποίηση Χρόνιας Μυελοειδούς Λευχαιμίας (ΧΜΛ) από άλλες νόσους μυελοϋπερπλαστικού τύπου, ιδιαίτερω από μυελοϊνωση και πολυκυτταραιμία ή άλλες φλεγμονώδεις ή ογκολογικές παθήσεις. Επιπλέον, ο δείκτης αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης αντιπροσωπεύει μια απλή παράμετρο για την πρόγνωση σε ΧΜΛ, διότι αντανάκλα τις διαφορετικές φάσεις δραστηριότητας της αιματολογικής νόσου.
Η αλκαλική λευκοκυτταρική φωσφατάση καταλύει την υδρόλυση φωσφορικών εστέρων σε αλκαλικό διάλυμα. Η 1-ναφθόλη που ελευθερώνεται από 1-ναφθυλ-φωσφορικό συζεύγνυται με ένα άλας διαζωνίου για τον σχηματισμό μιας καφέ αζωχρωστικής, που καθιζάνει ανάλογα με τον τόπο και την ALPA στο κύτταρο.

Υλικό δείγματος

Υλικό κυτταροφυγοκέντρου και φρέσκα, εγγενή επιχρίσματα αίματος ή μυελού των οστών θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως υλικό έναρξης για όλες τις χρώσεις. Η χρήση π.χ. EDTA ως αντιπηκτικού μειώνει σημαντικά την ενζυμική αντίδραση. Σε κάθε περίπτωση δεν συνιστάται η προσθήκη οπιοιωνόηποτε αντιπηκτικών ουσιών.

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 1.16300.0002	LEUCOGNOST® ALPA Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής φωσφατάσης λευκοκυττάρων σε λευκοκύτταρα
-------------------------------	---

Μέρη συσκευασίας:

Αυτό το κιτ χρώσης περιέχει	
Αντιδραστήριο 1:	LEUCOGNOST® ALPA τρις(υδροξυμεθυλ)-αμινομεθάνιο
Αντιδραστήριο 2:	LEUCOGNOST® ALPA Άλας 1-ναφθυλ φωσφορικού νατρίου
Αντιδραστήριο 3:	LEUCOGNOST® ALPA Variamin® κυανό άλας Β
1 κουτάλι μετρήσεων	

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 108562	Aquatex® (υδατικό μέσο στερέωσης) για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη των 50 ml
Αρ. καταλόγου 109249	Διάλυμα αιματοξυλίνης και στυπτηρίας της Mayer για μικροσκοπία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 112327	LEUCOGNOST® Μείγμα μονιμοποίησης για ενζυμική κυτταροχημεία	500 ml

Παρασκευή δείγματος

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από έμπειρο προσωπικό.
Χρησιμοποιήστε λεπτά, στεγνωμένα στον αέρα επιχρίσματα αίματος ή μυελού των οστών που έχουν αποθηκευτεί για όχι πάνω από τρεις ημέρες.
Τα επιχρίσματα πρέπει να στεγνώνονται στον αέρα τουλάχιστον για 30 λεπτά και να μονιμοποιούνται σύμφωνα με τις σχετικές οδηγίες πριν από την τρέχουσα κυτταροχημική αντίδραση.

Μονιμοποιήστε τα στεγνωμένα στον αέρα επιχρίσματα αίματος ή μυελού των οστών σε Μείγμα μονιμοποίησης LEUCOGNOST®	1 - 3 λεπτά
Ξεπλύνετε με τρεχούμενο νερό βρύσης	10 δευτ.
Στεγνώστε στον αέρα.	

Μετά τη μονιμοποίηση τα επιχρίσματα μπορούν να αποθηκευτούν στο ψυγείο για έως και 3 ημέρες.
Όλα τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία με χρήση προηγμένης τεχνολογίας.
Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή σήμανση.
Για τη λήψη και την προετοιμασία των δειγμάτων πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα.
Ακολουθήστε τις οδηγίες του κατασκευαστή για εφαρμογή / χρήση.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Διάλυμα χρώσης

Χρησιμοποιείτε μόνο πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματα.

Αντιδραστήριο 1: (τρις(υδροξυμεθυλ)-αμινομεθάνιο)	4 κουτάλια μετρήσεων επιπέδου (εσωκλείονται, για 1,1 g)
Απεσταγμένο νερό	100 ml
Διαλύστε εντελώς το αντιδραστήριο = διάλυμα Α	

Αντιδραστήριο 2 (Άλας 1-ναφθυλ φωσφορικού νατρίου)	ολικό περιεχόμενο φιάλης
Διάλυμα Α	15 ml
Ξεπλύνετε το αντιδραστήριο με 15 ml διαλύματος Α σε ένα δοχείο χρώσης Hellendahl = διάλυμα Β	

Αντιδραστήριο 3 (Variamin® κυανό άλας Β)	ολικό περιεχόμενο φιάλης
Διάλυμα Α	45 ml
Ξεπλύνετε το αντιδραστήριο με 45 ml διαλύματος Α σε ένα δοχείο Erlenmyer ανακινήστε ζωηρά για 2 λεπτά διηθήστε στο δοχείο χρώσης που περιέχει διάλυμα Β μέσω ενός φίλτρου πλήρους ροής αναμείξτε καλά = διάλυμα χρώσης	

Το διάλυμα χρώσης που προετοιμάζεται με αυτό τον τρόπο είναι σταθερό για 90 λεπτά το πολύ.
Το διάλυμα αντιδραστηρίου είναι ερυθρό-καφέ και θολώνει γρήγορα.
Η θολότητα, ωστόσο, δεν επηρεάζει την ποιότητα χρώσης.

Διαδικασία

Χρώση σε δοχείο χρώσης Hellendahl των 60 ml

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες πρέπει να εμβαπτίζονται και να μετακινούνται για λίγο στα διαλύματα. Η απλή εμβάπτιση μόνο δίνει ακατάλληλα αποτελέσματα χρώσης.
Οι πλάκες θα πρέπει να αφιόνονται να σταλάζουν καλά μετά από τα μεμονωμένα βήματα χρώσης, ως μέτρο αποφυγής οποιασδήποτε άσκοπης διασταυρούμενης μόλυνσης διαλυμάτων.
Οι αναγραφόμενοι χρόνοι θα πρέπει να τηρούνται για τη διασφάλιση ενός βέλτιστου αποτελέσματος χρώσης.

Αντικειμενοφόρος πλάκα με μονιμοποιημένο επίχρισμα	
Τοποθετήστε σε πρόσφατα παρασκευασμένο διάλυμα χρώσης	10 - 15 λεπτά
Ξεπλύνετε με απεσταγμένο νερό.	
Στεγνώστε στον αέρα.	
Υποβάλλετε σε αντιχρώση με διάλυμα αιματοξυλίνης και στυπτηρίας της Mayer	5 λεπτά
Ξεπλύνετε με τρεχούμενο νερό βρύσης	1 - 3 λεπτά
Στεγνώστε στον αέρα [π.χ. όλη τη νύχτα (8 ώρες) ή σε 50 °C στον θάλαμο ξήρανσης]	
Στερεώστε, εάν είναι απαραίτητο, με Aquatex® και καλυπτρίδα.	

Για να επιτραπεί η αποθήκευση αιματολογικών δειγμάτων για μια περίοδο αρκετών μηνών, συνιστάται η κάλυψή τους με υδατικό μέσο στερέωσης (π.χ. Aquatex®) και καλυπτρίδα. Εάν μείνει χωρίς στερέωση, η χρώση παραμένει σταθερή για περίπου 3 ημέρες, καλυμμένη με έλαιο εμβάπτισης για λίγες μόνο ώρες.
Η χρήση ελαίου εμβάπτισης συνιστάται για την ανάλυση πλακών που έχουν υποβληθεί σε χρώση με μεγέθυνση μικροσκοπίου >40x.

Αποτέλεσμα

Το καφέ προϊόν αντίδρασης υπάρχει μόνο στα τελικά στάδια ωρίμανσης κοκκιοποίησης. Αξιολόγηση 100 ουδετερόφιλων με τεμαχισμένους πυρήνες. Στην περίπτωση ουδετεροπενίας το πολύ έως και 10% με πυρήνες ραβδίων.

Μέτρηση σύμφωνα με τον βαθμό της χρώσης χρησιμοποιώντας τα παρακάτω 5 βήματα χρωματικής έντασης.

- Βήμα έντασης 0: καμία αντίδραση
- Βήμα έντασης 1: μονό έως λίγα κοκκία
- Βήμα έντασης 2: πολλά εντοπισμένα κοκκία
- Βήμα έντασης 3: διανεμημένα διάχυτα κοκκία
- Βήμα έντασης 4: κύτταρο εντελώς επισκιασμένο με κοκκία
- Βήμα έντασης 5: μέγιστος αριθμός κοκκίων, συχνά ο πυρήνας δεν είναι πλέον ορατός

Αξιολόγηση

Πολλαπλασιάστε τα ποσοστά που ορίζονται από τους παράγοντες για τις αντίστοιχες τάξεις αντίδρασης και προσθέστε τα γινόμενα για να λάβετε τον δείκτη ALPA χωρίς διαστάσεις

Παράδειγμα αξιολόγησης:

Πλήθος κυττάρων (%) x	Βαθμός ισχύος	=	Γινόμενο
8	x	0	= 0
42	x	1	= 42
24	x	2	= 48
12	x	3	= 36
7	x	4	= 28
7	x	5	= 35
Άθροισμα = δείκτης ALPA			= 189
Φυσιολογικό εύρος: 10 έως 100			

Ένας μειωμένος δείκτης είναι παθολογικός για τη φάση ενεργού νόσου της χρόνιας μυελοειδούς λευχαιμίας. Μόνο αιμολυτικές αναιμίες, σιδηροπενικές αναιμίες ή μεμονωμένες ιογενείς νόσοι παράγουν συγκρίσιμες χαμηλές τιμές δείκτη. Φυσιολογικές και αυξημένες τιμές επιτρέπουν πάντα έναν αριθμό ερμηνείας, με αποτέλεσμα να μην έχουν σημασία για τη διαφορική διάγνωση. Οι χρόνιες μυελοειδείς λευχαιμίες σε ύφεση μπορούν επίσης να παράγουν φυσιολογικές ή ακόμα και αυξημένες τιμές ALPA. Γενικά όσο υψηλότερος είναι ο δείκτης τόσο πιο εκτεταμένα οι νεκροβιωτικές καταβολικές διεργασίες (π.χ. ρευστοποίηση φλεγμονώδους ιστού) προχωρούν σε φλεγμονώδεις ή ογκολογικές διεργασίες.

Τεχνικές σημειώσεις

Το μικροσκόπιο που χρησιμοποιείται θα πρέπει να πληροί τις απαιτήσεις ενός ιατρικού διαγνωστικού εργαστηρίου. Αφαιρέστε το επιπλέον έλαιο εμβάπτισης πριν από την αρχειοθέτηση.

Διάγνωση

Οι διαγνώσεις θα πρέπει να γίνονται μόνο από αρμόδιο και εκπαιδευμένο προσωπικό. Θα πρέπει να χρησιμοποιείται έγκυρη ονοματολογία. Θα πρέπει να επιλεγούν και να εφαρμοστούν περισσότερες δοκιμασίες σύμφωνα με αναγνωρισμένες μεθόδους. Κατάλληλοι έλεγχοι θα πρέπει να διεξάγονται με κάθε εφαρμογή για την αποφυγή λανθασμένου αποτελέσματος.

Φύλαξη

Να φυλάσσετε το LEUCOGNOST® ALPA – Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης σε λευκοκύτταρα σε θερμοκρασία +2°C έως +8°C.

Διάρκεια ζωής

Το kit LEUCOGNOST® ALPA – Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής λευκοκυτταρικής φωσφατάσης στα λευκοκύτταρα μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης. Μετά το πρώτο άνοιγμα της φιάλης, το περιεχόμενο μπορεί να χρησιμοποιηθεί έως και την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης όταν αποθηκεύεται σε θερμοκρασία +2°C έως +8°C. Οι φιάλες πρέπει να διατηρούνται ερμητικά κλειστές συνεχώς. Το πρόσφατα προετοιμασμένο διάλυμα χρώσης παραμένει σταθερό για τουλάχιστον 90 λεπτά

Ικανότητα

Το kit χρώσης επαρκεί για 12 χρώσεις με έως και 16 πλάκες. Είναι δυνατή η ταυτόχρονη χρώση έως και 8 πλακών μικροσκοπίου ή 16 πλάτη με πλάτη σε δοχεία Hellendahl των 60 ml με προεκτάσεις (αντιστοιχεί σε ένα παρασκεύασμα χρώσης).

Πρόσθετες οδηγίες

Για επαγγελματική χρήση μόνο. Για την αποφυγή σφαλμάτων, η εφαρμογή πρέπει να πραγματοποιείται μόνο από έμπειρο προσωπικό. Θα πρέπει να ακολουθούνται οι εθνικές κατευθυντήριες γραμμές για την ασφάλεια στην εργασία και τη διασφάλιση ποιότητας. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μικροσκόπια εξοπλισμένα σύμφωνα με τα πρότυπα.

Προστασία από λοίμωξη

Θα πρέπει να λαμβάνονται αποτελεσματικά μέτρα για την προστασία από λοίμωξη σύμφωνα με τις εργαστηριακές κατευθυντήριες γραμμές.

Οδηγίες απόρριψης

Η συσκευασία πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες απόρριψης. Τα χρησιμοποιημένα διαλύματα και τα διαλύματα των οποίων η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει πρέπει να απορρίπτονται ως ειδικά απόβλητα σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες γραμμές. Οι πληροφορίες για την απόρριψη παρέχονται στον σύνδεσμο “Hints for Disposal of Microscopy Products” (Συμβουλές για την απόρριψη των προϊόντων μικροσκοπίας) στη διεύθυνση www.microscopy-products.com. Εντός της ΕΕ, ο τρεχόντως εφαρμοζόμενος ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ είναι ο κανονισμός (ΕΚ) Αρ. 1272/2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και των μειγμάτων, την τροποποίηση και την κατάργηση των Οδηγιών 67/548/ΕΟΚ και 1999/45/ΕΚ, και την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αρ. 1907/2006.

Βοηθητικά αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου 104699	Έλαιο εμβάπτισης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 108562	Aquatex® (υδατικό μέσο στερέωσης) για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη των 50 ml
Αρ. καταλόγου 109249	Διάλυμα αιματοξυλίνης και στυπτηρίας της Mayer για μικροσκοπία	500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 112327	LEUCOGNOST® Μείγμα μονιμοποίησης για ενζυμική κυτταροχημεία	500 ml

Ταξινόμηση ασφάλειας

Αρ. καταλόγου 1.16300.0002 Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας. Το φύλλο δεδομένων ασφάλειας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

Κύρια συστατικά του προϊόντος

Αρ. καταλόγου 1.16300.0002	Αντιδραστήριο 1	
	Τρις (υδροξυμεθυλ)-αμινομεθάνιο)	130 mmol
Αντιδραστήριο 2	Άλας 1-ναφθυλ φωσφορικού νατρίου	120 μmol
Αντιδραστήριο 3	Variamin® κυανό άλας Β	68 mg

Άλλα προϊόντα IVD

Αρ. καταλόγου 101424	Διάλυμα ηωσίνης-κυανού του μεθυλενίου May-Grünwald τροποποιημένο για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 109016	Neo-Mount® άνυδρο μέσο στερέωσης για μικροσκοπία	Σταγονομετρική φιάλη 100 ml, 500 ml
Αρ. καταλόγου 109204	Διάλυμα Giemsa κυανού ηωσίνης- μεθυλενίου (Giemsa's azur-eosin- methylene blue solution) για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 109843	Neo-Clear® (υποκατάστατο ξυλενίου) για μικροσκοπία	5 l
Αρ. καταλόγου 115355	CYTOCOLOR® Πρότυπη κυτταρολογική χρώση κατά Szczeranik για μικροσκοπία	6 x 500 ml
Αρ. καταλόγου 116301	LEUCOGNOST® EST Ανίχνευση αντίδρασης άλφα ναφθυλ οξεικής εστεράσης σε λευκοκύτταρα	12 μονάδες
Αρ. καταλόγου 116302	LEUCOGNOST® PAS Ανίχνευση της αντίδρασης υπεριοξικού οξέος-Schiff σε λευκοκύτταρα	12 μονάδες
Αρ. καταλόγου 116303	LEUCOGNOST® POX Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα	12 μονάδες
Αρ. καταλόγου 116304	LEUCOGNOST® AP Ανίχνευση αντίδρασης όξινης φωσφατάσης σε λευκοκύτταρα	12 μονάδες
Αρ. καταλόγου 117198	LEUCOGNOST® NASDCL νέο Ανίχνευση ναφθόλης AS-D χλωροοξεικής εστεράσης σε κοκκιοκύτταρα	12 μονάδες

Δογοτεχνία

1. Löffler, H., Rastetter, J., Haferlach, T, Atlas der klinischen Hämatologie, 2004, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
2. Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
3. Conn's Biological Stains: A Handbook of Dyes, Stains and Fluorochromes for Use in Biology and Medicine, 10th Edition, (ed. Horobin, R.W. and Kiernan, J.A). Bios, 2002



Συμβουλευτείτε τις
οδηγίες χρήσης



Κατασκευαστής



Αριθμός
καταλόγου



Κωδικός
παρτίδας



Προσοχή, συμβουλευτείτε
τα συνοδά έντυπα



Χρήση έως
EEEE-MM-HH



Όρια
θερμοκρασίας

Καθεστώς: 2017-09-19

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Γερμανία
Τηλ. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica,
MA 01821, Η.Π.Α., Τηλ. +1-978-715-4321

