

1.16302.0002

Microscopia

LEUCOGNOST® PAS

Accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Kit di reattivi citochimico per la diagnosi della leucemia

Il presente kit di "LEUCOGNOST® PAS - Accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti" è utilizzato per la diagnostica cellulare nell'uomo e serve per l'esame ematologico e citologico di campioni di origine umana. È un kit di colorazione che, congiuntamente ad altri prodotti diagnostici in vitro del nostro portafoglio, consente l'analisi diagnostica delle strutture bersaglio (mediante fissaggio, colorazione, eventuale controcolorazione, montaggio) nei campioni ematologici e clinici citologici, quali ad esempio strisci di sangue e di midollo osseo.

Il presente kit di colorazione è previsto per la reazione nella cuvetta da 60 ml di Hellendahl e contiene tutti i reattivi necessari per il accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti. È stato possibile ridurre sensibilmente i tempi di reazione del presente kit in modo da concludere l'esecuzione in circa 45 minuti al massimo.

Principio

In ematologia la reazione PAS è un metodo importante per l'identificazione di elementi cellulari linfatici. Insieme alla reazione delle perossidasi e esterasi è una delle tre colorazioni citochimiche d'importanza fondamentale per la diagnosi differenziale, che si eseguono regolarmente nei casi di leucemie acute. È possibile utilizzare gli strisci già colorati con il metodo di Pappenheim per una seconda colorazione con il PAS; con l'acido periodico all'1 % si può poi decolorare nuovamente lo striscio.

L'acido periodico scinde i legami carbonio-carbonio contigui dei polisaccaridi (glicogeno), quando su ambedue tali atomi di carbonio sono fissati dei gruppi ossidrilici. In questa reazione i gruppi alcolici vengono ossidati ad aldeidi, che successivamente si evidenziano con una colorazione rosso vivo con il reattivo di Schiff (fucsina acido solforoso).

Il kit può essere utilizzato in combinazione con il Reagenti di Schiff (art. 109033) per una colorazione rossa marcata oppure con il Reattivo di Schiff Intense (art. 102572) per una colorazione rossa ancora più intensa. L'utilizzo del Reattivo di Schiff Intense si caratterizza principalmente per tempi di reazione molto più brevi.

Materiale d'esame

Quale materiale di partenza per tutte le colorazioni è necessario utilizzare preparati da citocentrifuga e strisci di sangue o midollo osseo nativo fresco. L'impiego di EDTA come anticoagulante, ad es., indebolisce notevolmente la reazione di enzimi e l'aggiunta di sostanze anticoagulanti è pertanto sconsigliato.

Reattivi

Art. 1.16302.0002

LEUCOGNOST® PAS

Accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti

Componenti della confezione:

Il kit di colorazione contiene

Reattivo 1: LEUCOGNOST® PAS Acido periodico

Reattivo 2: LEUCOGNOST® PAS Potassio bisolfito

Reattivo 3: LEUCOGNOST® PAS Acido cloridrico

Inoltre necessario:

Art. 109033 Reattivo di Schiff per microscopia 500 ml, 2,5 l

Art. 102572 Reattivo di Schiff Intense per la rilevazione di aldeidi e mucosostanze in microscopia 1 l

Art. 109249 Emallume soluzione secondo Mayer per microscopia 500 ml, 1 l, 2,5 l

Art. 112327 LEUCOGNOST® Miscela di fissaggio Fissativo per citochimica enzimatica 500 ml

Art. 108562 Aquatex® (mezzo di montaggio acquoso) per microscopia flacone contagocce di 50 ml

Preparazione dei campioni

Il campionamento deve essere effettuato da personale specializzato.

Vanno utilizzati strisci di sangue o midollo osseo sottili, fatti asciugare all'aria e conservati per 3 giorni al massimo. Gli strisci vanno fatti asciugare all'aria per minimo di 30 minuti e fissati secondo il protocollo relativo, prima della reazione citochimica.

Fissare gli strisci di sangue o di midollo osseo asciugati all'aria con la miscela di fissaggio LEUCOGNOST®	1 - 3 minuti
Risciacquare con acqua di rubinetto corrente	10 secondi
Lasciare asciugare all'aria	

Gli strisci fissati possono essere conservati in frigorifero a 3 giorni.

Tutti i campioni devono essere trattati secondo la tecnica standard vigente. Tutti i campioni vanno contrassegnati in modo tale da essere facilmente identificati. Devono essere utilizzati strumenti adatti per il prelievo e la preparazione dei campioni; vanno osservate rigorosamente le indicazioni del produttore circa l'applicazione e le istruzioni d'uso.

Preparazione de reattivo

Soluzione A

Per la preparazione di ca. 60 ml di soluzione si miscelano:

Acqua distillata	60 ml
Reattivo 1 (acido periodico)	intero contenuto di flacone
Sciogliere completamente il reattivo e trasferire nella cuvetta da 60 ml di Hellendahl = soluzione A	

Soluzione B

Per la preparazione di ca. 60 ml di soluzione si miscelano:

Acqua distillata	60 ml
Reattivo 2 (potassio bisolfito)	intero contenuto di flacone
Sciogliere completamente il reattivo e trasferire nella cuvetta da 60 ml di Hellendahl	
Reattivo 3 (acido cloridrico)	2 ml
Aggiungere e mescolare = soluzione B	

Tutte le soluzione reattivi preparati sono incolori e stabile per 3 ore.

Esecuzione

Colorazione nella cuvetta da 60 ml di Hellendahl con Reagenti di Schiff, art. 109033

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere brevemente nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinamento (carry-over) delle soluzioni. Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

Portaoggetti con striscio fissato	
Immergere in soluzione A	15 minuti
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Immergere in soluzione B	1 minuto
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Colorare in Reagenti di Schiff, art. 109033 a 20 - 25 °C	15 minuti
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Immergere di nuovo in soluzione B	2 minuti
Immergere in con acqua destillata	3 minuti
Controcolorare con emallume soluzione secondo Mayer	3 minuti
Risciacquare con acqua di rubinetto corrente	3 minuti
Asciugare all'aria (ad es. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)	
Eventualmente montare con Aquatex® e con vetrino coprioggetti.	

Per la conservazione dei preparati ematologici per più mesi, si consiglia di utilizzare mezzi di montaggio acquosi (ad es., Aquatex®) e vetrino coprioggetti. Senza montaggio, la colorazione è stabile per circa 30 giorni; in caso di montaggio con olio di immersione la colorazione è stabile solo per 3 giorni.

Colorazione nella cuvetta da 60 ml di Hellendahl con Reattivo di Schiff Intense, art. 102572

I portaoggetti vanno immersi e fatti muovere brevemente nelle soluzioni; la semplice immersione non produce risultati soddisfacenti.

I portaoggetti vanno fatti sgocciolare accuratamente dopo le singole fasi della colorazione, in modo da evitare il trascinamento (carry-over) delle soluzioni.

Per ottenere una colorazione ottimale si dovrebbero rispettare i tempi indicati.

I preparati colorati con il Reattivo di Schiff Intense presentano una colorazione più intensa.

Portaoggetti con striscio fissato	
Immergere in soluzione A	5 minuti
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Immergere in soluzione B	1 minuto
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Colorare in Reattivo di Schiff Intense, art. 102572 a 20 - 25 °C	5 minuti
Risciacquare con acqua destillata	10 secondi
Immergere di nuovo in soluzione B	2 minuti
Immergere in con acqua destillata	3 minuti
Controcolorare con emallume soluzione secondo Mayer	3 minuti
Risciacquare con acqua di rubinetto corrente	3 minuti
Asciugare all'aria (ad es. per una notte o a 50 °C nell'armadio di asciugatura)	
Eventualmente montare con Aquatex® e con vetrino coprioggetti.	

Per la conservazione dei preparati ematologici per più mesi, si consiglia di utilizzare mezzi di montaggio acquosi (ad es., Aquatex®) e vetrino coprioggetti. Senza montaggio, la colorazione è stabile per circa 30 giorni; in caso di montaggio con olio di immersione la colorazione è stabile solo per 3 giorni.

Per l'analisi dei preparati colorati con ingrandimento al microscopio >40x, si consiglia di utilizzare olio di immersione.

Risultato

I preparati colorati con il Reattivo di Schiff Intense presentano una colorazione più intensa.

Tutte le strutture polisaccaridiche, specialmente se contenenti glicogeno, assumono un'intensa colorazione rossa.

Popolazioni di blasti, nei quali siano riconoscibili almeno in parte granulazioni caratteristiche, a granuli grossolani, PAS-positivi, sono in genere da attribuire alla serie linfatica.

I blasti leucemici della serie mieloide presentano invece una struttura da diffusa a finemente granulare, talvolta anche con zolle grossolane PAS-positive.

Al contrario invece mieloblasti normali, eosinofili e cellule eritrocitiche inalterate sono PAS-negative.

Promielociti, monociti, basofili e l'intera serie di sviluppo neutrofilo presentano una colorazione rossa diffusa, la cui intensità di colorazione aumenta con la maturazione.

Possono infine presentare una reazione PAS marcata gli eritroblasti nelle leucemie eritrocitiche ed in alcune anemie iperrigenerative estreme.

Annotazioni tecnici

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti previsti in un laboratorio medico diagnostico.

Negli strisci di sangue può comparire un precipitato finemente granulare di scarsa entità che non influisce minimamente sulla valutazione diagnostica.

Eliminare l'olio di immersione in eccesso prima dell'archiviazione.

Diagnostica

Le diagnosi vanno eseguite solo da personale qualificato ed autorizzato.

Devono essere utilizzate nomenclature valide.

Ulteriori test vanno scelti ed eseguiti secondo metodi riconosciuti.

Per ogni applicazione devono essere eseguiti controlli appropriati, per escludere possibili risultati errati.

Conservazione

Il kit di LEUCOGNOST® PAS - Accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti va conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Stabilità

Il kit di LEUCOGNOST® PAS - Accertamento della reazione dell'acido periodico secondo Schiff nei leucociti può essere utilizzato entro la data di scadenza indicata.

Una volta aperto il flacone, il contenuto si mantiene stabile fino alla data di scadenza indicata se conservato ad una temperatura compresa tra +15 °C e +25 °C.

Conservare sempre i flaconi ben chiusi.

Le soluzioni preparati A e B sono incolori e stabili per 3 ore.

Capacità

Il kit di colorazione è sufficiente per 12 colorazioni con fino a 16 preparati.

Nelle cuvette da 60 ml di Hellendahl con estensione (corrisponde a una esecuzione colorante), è possibile colorare contemporaneamente fino a 8 portaoggetti e fino a 16 portaoggetti posti l'uno accanto all'altro ("spalla a spalla").

Istruzioni per l'uso

Solo per uso professionale.

Per evitare errori, la applicazione deve essere eseguita da personale specializzato.

Vanno osservate le direttive nazionali in materia di sicurezza sul lavoro e di assicurazione di qualità.

Vanno utilizzati microscopi conformi agli standard vigenti.

All'occorrenza utilizzare una centrifuga che soddisfi gli standard di laboratorio ed i rispettivi requisiti.

Protezione contro le infezioni

Vanno rigorosamente osservate le norme di laboratorio relative alla protezione contro le infezioni.

Istruzioni per lo smaltimento

La confezione deve essere smaltita nel rispetto delle vigenti direttive in materia.

Le soluzioni usate e le soluzioni scadute vanno smaltite come rifiuti pericolosi, in conformità alle disposizioni locali vigenti in materia di smaltimento dei rifiuti.

Per richiedere informazioni sullo smaltimento selezionare il Quick link "Hints for Disposal of Microscopy Products" all'indirizzo www.microscopy-products.com.

Nell'Unione europea trova applicazione il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006.

Reattivi ausiliari

Art. 102572	Reattivo di Schiff Intense per la rilevazione di aldeidi e mucosostanze in microscopia	1 l
Art. 104699	Olio di immersione per microscopia	flacone contagocce di 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 108562	Aquatex® (mezzo di montaggio acquoso) per microscopia	flacone contagocce di 50 ml
Art. 109033	Reattivo di Schiff per microscopia	500 ml, 2,5 l
Art. 109249	Emallume soluzione secondo Mayer per microscopia	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 112327	LEUCOGNOST® Miscela di fissaggio Fissativo per citochimica enzimatica	500 ml

Classificazione di sostanze pericolose


Art. 1.16302.0002

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e seguire le indicazioni della scheda di sicurezza.


La scheda di sicurezza è disponibile su sito Internet e su richiesta.

Componenti principali dei prodotti


Art. 1.16302.0002	
Reattivo 1	
Acido periodico	1,3 mmol
Reattivo 2	
Potassio bisolfito	1,48 mmol
Reattivo 3	
Acido cloridrico	60 mmol




Consult instructions for use




Manufacturer




Catalog number




Batch code



Caution, consult accompanying documents



Use by YYYY-MM-DD



Temperature limitation

Status: 2016-11-15

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

EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Tel. +1-978-715-4321

