

1.16302.0002

Microscopía

LEUCOGNOST® PAS

detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Kit de reactivos citoquímicos para diagnóstico de la leucemia

El presente kit de "LEUCOGNOST® PAS - detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen hematológico y citológico de muestras de origen humano. Se trata de un kit de tinción que, junto con otros materiales de diagnóstico in vitro pertenecientes a nuestra cartera, hace evaluables determinadas para el diagnóstico estructuras de destino (mediante fijación, tinción, dado el caso contratinción, montaje) en material de examen hematológico y clínico-citológico, como p.ej. frotis de sangre total y de médula ósea.

El presente kit de tinción está previsto para la reacción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl y contiene todos los reactivos necesarios para detección de la reacción de ácido peryódico Schiff en leucocitos. Los tiempos de reacción del presente kit han podido ser reducidos claramente, por lo que el proceso estará acabado en unos 45 minutos como máximo.

Principio

En hematología la reacción PAS es un importante método para la identificación de elementos celulares linfáticos. Junto a la reacción de peroxidasas y esterases es una de las tres tinciones citoquímicas básicas, importantes para el diagnóstico diferencial, que se realizan regularmente en el caso de leucemias agudas. Los frotis ya teñidos según Pappenheim pueden además ser teñidos posteriormente con PAS y pueden decolorarse de nuevo con ácido peryódico al 1 %.

El ácido peryódico rompe los enlaces carbono carbono vecinos de polisacáridos (glucógeno) si los dos átomos de carbono llevan grupos hidroxilo. Los grupos alcohólicos se oxidan entonces a aldehídos, que seguidamente pueden ser visualizados en rojo intenso con el reactivo de Schiff (fucsina ácido sulfuroso).

En combinación con el kit se podrá utilizar o el Reactivo de Schiff (art. 109033), para obtener una fuerte tinción roja, o el Reactivo de Schiff Intense (art. 102572), para conseguir una tinción roja aún más intensa. En esto, la diferencia se encuentra sobre todo en los tiempos de reacción más cortos al trabajar con el Reactivo de Schiff Intense.

Material de las muestras

Como material de partida para todas las tinciones deberían utilizarse preparados procedentes de la citocentrífuga y frotis frescos y nativos de sangre o médula ósea. Por ejemplo, el uso de EDTA como anticoagulante debilita la reacción de enzima de forma importante, por esto no es recomendable la adición de sustancias inhibitoras de la coagulación.

Reactivos

Art. 1.16302.0002
LEUCOGNOST® PAS
detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1: LEUCOGNOST® PAS Ácido peryódico

Reactivo 2: LEUCOGNOST® PAS Potasio disulfito

Reactivo 3: LEUCOGNOST® PAS Ácido clorhídrico

Necesario además:

Art. 109033 Reactivo de Schiff para microscopía 500 ml, 2,5 l

o
Art. 102572 Reactivo de Schiff Intense para la detección de aldehído y mucosustancias en la microscopía 1 l

Art. 109249 Hemalumbre en solución según Mayer para microscopía 500 ml, 1 l, 2,5 l

Art. 112327 LEUCOGNOST® mezcla fijadora fijador para citoquímica de enzimas 500 ml

Art. 108562 Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía frasco gotero de 50 ml

Preparación de las muestras

La toma de muestra debe ser realizada por personal especializado.

Se necesitan frotis de sangre o médula ósea finos, secados al aire y guardados como máximo durante 3 días.

Los frotis han de ser secados al aire durante 30 minutos como mínimo, debiéndose fijar éstos antes de la reacción citoquímica propiamente dicha según las correspondientes prescripciones.

Fijación de los frotis sanguíneos o de médula ósea secados al aire en la mezcla fijadora LEUCOGNOST®	1 - 3 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo	10 segundos
Secar al aire	

Después de la fijación, los frotis podrán ser almacenados hasta 3 días en el frigorífico.

Todas las muestras deben tratarse de acuerdo con el estado de la tecnología.

Todas las muestras deben estar rotuladas inequívocamente.

Deben usarse instrumentos adecuados para la toma de muestras y en la preparación, y deben seguirse las instrucciones del fabricante para la aplicación / el empleo.

Preparación de reactivos

Solución A

Para preparar aprox. 60 ml de solución se añaden juntos:

Agua destilada	60 ml
Reactivo 1 (ácido peryódico)	contenido completo del frasco
Disolver el reactivo completamente y añadirlo a una cubeta de 60 ml de Hellendahl = solución A	

Solución B

Para preparar aprox. 60 ml de solución se añaden juntos:

Agua destilada	60 ml
Reactivo 2 (potasio disulfito)	contenido completo del frasco
Disolver el reactivo completamente y añadirlo a una cubeta de 60 ml de Hellendahl	
Reactivo 3 (ácido clorhídrico)	2 ml
Añadir y mezclar = solución B	

Todas las soluciones de reactivos preparadas son incoloras y utilizables durante 3 horas.

Técnica

Tinción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl con Reactivo de Schiff, art. 109033

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Portaobjeto con frotis fijado	
Introducir en solución A	15 minutos
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Introducir en solución B	1 minuto
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Teñir en Reactivo de Schiff, art. 109033 a 20 - 25 °C	15 minutos
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Introducir de nuevo en solución B	2 minutos
Introducir en agua destilada	3 minutos
Contratinción con hemalumbre en solución según Mayer	3 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo	3 minutos
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)	
Si es necesario, montar con Aquatex® y cubreobjetos.	

Para el almacenamiento de preparados hematológicos durante varios meses se recomienda el montaje con un medio de montaje acuoso (p.ej. Aquatex®) y un cubreobjetos. Sin montaje, la tinción tendrá una estabilidad de unos 30 días; si se cubre con aceite de inmersión, la estabilidad será de sólo 3 días.

Tinción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl con Reactivo de Schiff Intense, art. 102572

Los portaobjetos han de ser inmersos y movidos brevemente en las soluciones, la simple introducción proporcionará resultados de tinción insuficientes.

Los portaobjetos deberían ser escurridos bien por goteo después de los diferentes pasos de tinción, de esta manera se podrá evitar el innecesario arrastre de soluciones.

Para conseguir un óptimo resultado de tinción, deberían respetarse los períodos indicados.

Los preparados teñidos con el Reactivo de Schiff Intense presentan una tinción más intensa.

Portaobjeto con frotis fijado	
Introducir en solución A	5 minutos
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Introducir en solución B	1 minuto
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Teñir en Reactivo de Schiff Intense, art. 102572 a 20 - 25 °C	5 minutos
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Introducir de nuevo en solución B	2 minutos
Introducir en agua destilada	3 minutos
Contratinción con hemalumbre en solución según Mayer	3 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo	3 minutos
Secar al aire (p.ej. durante la noche o a 50 °C en el armario de secado)	
Si es necesario, montar con Aquatex® y cubreobjetos.	

Para el almacenamiento de preparados hematológicos durante varios meses se recomienda el montaje con un medio de montaje acuoso (p.ej. Aquatex®) y un cubreobjetos. Sin montaje, la tinción tendrá una estabilidad de unos 30 días; si se cubre con aceite de inmersión, la estabilidad será de sólo 3 días.

Para el análisis de preparados teñidos con un aumento microscópico >40x se recomienda el uso de aceite de inmersión.

Resultado

Los preparados teñidos con el Reactivo de Schiff Intense presentan una tinción más intensa.

Todas las estructuras que contienen polisacáridos, especialmente glucógeno, se tiñen de rojo intenso.

Las poblaciones de blastos, que como mínimo parcialmente permiten reconocer una granulación característica, de granulación gruesa, PAS positiva, se clasifican generalmente en la serie linfática.

Los blastos leucémicos de la serie mieloica son desde difusos hasta de granulación fina, en algunos casos adicionalmente muestran aglomerados groseros PAS positivos.

Los mieloblastos normales, eosinófilos y células de la serie de glóbulos sanguíneos rojos no interferidos son por el contrario PAS negativos.

Los promielocitos, monocitos, basófilos y toda la serie de desarrollo neutrófilo muestran una coloración roja difusa, que aparece de rojo intenso a medida que aumenta la madurez.

Los eritroblastos en el caso de eritroleucemias y algunas anemias extremadamente hiperregenerativas pueden mostrar una notable reacción PAS.

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.

En los frotis sanguíneos puede presentarse un pequeño precipitado de gránulo fino, que no influye en la evaluación diagnóstica.

Eliminar el aceite de inmersión en exceso antes de archivar.

Diagnóstico

Los diagnósticos deberán ser establecidos solamente por personas autorizadas y cualificadas.

Deberán emplearse terminologías vigentes.

Deberán elegirse y realizarse ensayos ulteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el kit de LEUCOGNOST® PAS - detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos de +15 °C a +25 °C.

Estabilidad

El kit de LEUCOGNOST® PAS - detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.

Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +15 °C y +25 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.

Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.

Las soluciones preparadas A y B son incoloras y utilizables durante 3 horas.

Capacidad

El kit de tinción es suficiente para 12 tinciones con hasta 16 preparados.

En las cubetas de 60 ml de Hellendahl con ampliación (corresponde a una preparación de tinción) pueden teñirse simultáneamente hasta 8 portaobjetos, y, colocados reverso frente a reverso, hasta 16 portaobjetos.

Notas sobre el empleo

Solamente para uso profesional.

Para evitar errores, la aplicación debería ser realizada por personal especializado. Deben cumplirse las directivas nacionales sobre seguridad en el trabajo y aseguramiento de la calidad.

Deben emplearse microscopios equipados de acuerdo con el estándar.

Si es necesario, deberá utilizarse una centrifugadora que corresponda al estándar de laboratorios y a las exigencias.

Protección contra infecciones

Debe observarse a toda costa una protección eficaz contra infecciones de acuerdo con las directivas de laboratorio.

Indicaciones para la eliminación de residuos

El envase debe ser eliminado de acuerdo con las directivas válidas de eliminación de residuos.

Las soluciones usadas y las soluciones caducadas deben eliminarse como desecho peligroso, debiéndose cumplir las directivas locales de eliminación de residuos. Podrá pedirse información sobre los procedimientos de eliminación bajo el Quick Link "Hints for Disposal of Microscopy Products" en www.microscopy-products.com. Dentro de la UE tiene validez el REGLAMENTO (CE) N° 1272/2008 sobre la clasificación, el etiquetado y el envasado de sustancias y mezclas, por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) N° 1907/2006.

Reactivos auxiliares

Art. 102572	Reactivo de Schiff Intense para la detección de aldehído y mucosustancias en la microscopía	1 l
Art. 104699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 108562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
Art. 109033	Reactivo de Schiff para microscopía	500 ml, 2,5 l
Art. 109249	Hemalumbre en solución según Mayer para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 112327	LEUCOGNOST® mezcla fijadora fijador para citoquímica de enzimas	500 ml

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.16302.0002

Tener en cuenta la clasificación de sustancias peligrosas en la etiqueta y las indicaciones en la ficha de datos de seguridad.

La ficha de seguridad está disponible en el sitio web y a solicitud.

Componentes principales de los productos

Art. 1.16302.0002

Reactivo 1	
Ácido peryódico	1,3 mmol
Reactivo 2	
Potasio disulfuro	1,48 mmol
Reactivo 3	
Ácido clorhídrico	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

