

1.16303.0002

Μικροσκοπία

LEUCOGNOST® POX

Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα

IVD In Vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν



Κιτ κυτταροχημικών αντιδραστηρίων για τη διάγνωση λευχαιμίας

Το κιτ «LEUCOGNOST® POX - Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα» χρησιμοποιείται για ιατρική κυτταρολογική διάγνωση στον άνθρωπο και προορίζεται για αιματολογική και κυτταρολογική διερεύνηση 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 της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα.

Αρχή της μεθόδου

Η αντίδραση υπεροξειδάσης, ιδιαίτερος η κυτταροχημικά σημαντική αντίδραση μυελού υπεροξειδάσης, προορίζεται για την ανίχνευση στοιχείων μυελοειδών κυτάρων. Ο βαθμός ωριμότητας των ωριμαζόντων κοκκιοκυττάρων μπορεί βασικά να υπολογιστεί από την ένταση της αντίδρασης καφεμαύρου χρώματος.

Η υπεροξειδάση είναι λυσοσωμικές καταλάσες που μεταφέρουν υδρογόνο από κατάλληλο δότη (προηγούμενως το καρκινογόνο βενζιδίνη, εδώ: 4-χλωρο-1-ναφθόλη) σε ένα υπεροξειδίο (εδώ: υπεροξειδίο του υδρογόνου). Ο δότης 4-χλωρο-1-ναφθόλης οξειδώνεται και μετατρέπεται σε μια καφεμαύρη αδιάλυτη χρωστική που μπορεί να θεωρηθεί ως ένας δείκτης δραστηριότητας υπεροξειδάσης.

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 οποιωνδήποτε αντιπηκτικών ουσιών.

Αντιδραστήρια

Αρ. καταλόγου LEUCOGNOST® POX
1.16303.0002 Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα

Μέρη συσκευασίας:

Αυτό το κιτ χρώσης περιέχει

Αντιδραστήριο 1:	LEUCOGNOST® POX 4-χλωρο-1-ναφθόλη	12 x 75 μmol
Αντιδραστήριο 2:	LEUCOGNOST® POX Ρυθμιστικό διάλυμα Τρις(υδροξυμεθυλο) αμινομεθανίου-HCl	10 ml
Αντιδραστήριο 3:	LEUCOGNOST® POX Διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου	5 ml

Απαιτούνται επίσης:

Αρ. καταλόγου 100974	Μετουσιωμένη αιθανόλη με περίπου 1% μεθυλαθυλική κετόνη για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
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®	3 λεπτά
Ξεπλύνετε με τρεχούμενο νερό βρύσης	30 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

Προετοιμασία διαλύματος χρώσης

Χρησιμοποιείτε μόνο πρόσφατα παρασκευασμένα διαλύματα.

Για προετοιμασία περίπου 60 ml διαλύματος, αναμείξτε:

Αντιδραστήριο 1 (4-χλωρο-1-ναφθόλη)	Περιεχόμενα πλήρους φιάλης
Αιθανόλη	15 ml
Διαλύστε το αντιδραστήριο 1 στην αιθανόλη και μεταφέρετε σε δοχείο Hellendahl των 60 ml.	
Προσθέστε απεσταγμένο νερό με ανάδευση.	45 ml
Προσθέστε το αντιδραστήριο 2 (Ρυθμιστικό διάλυμα τρις(υδροξυμεθυλο)αμινομεθανίου-HCl) με ανάδευση.	10 σταγόνες
Προσθέστε το αντιδραστήριο 3 (διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου) με ανάδευση.	2 σταγόνες

Το παρασκευασμένο διάλυμα χρώσης είναι άχρωμο και παραμένει σταθερό για 3 ώρες.

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 αφήνονται να σταλάξουν 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 λεπτά
Ξεπλύνετε με απεσταγμένο νερό.	10 δευτ.
Στεγνώστε στον αέρα.	
Υποβάλλετε σε αντιχρώση με διάλυμα αιματοξυλίνης και στυπτηρίας της Mayer	2 λεπτά
Ξεπλύνετε με τρεχούμενο νερό βρύσης	3 - 5 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

Ως συνέπεια της αντίδρασης υπεροξειδάσης, όλα τα κύτταρα στην αλληλουχία ωρίμανσης ουδετερόφιλων και ιδιαίτερος ηωσινόφιλων από τα προμυελοκύτταρα είναι **αναμφισβήτητα θετικά για υπεροξειδάση όταν είναι ορατά καφεμαύρα κοκκία**. Επίσης οι ωριμότεροι μυελοβλάστες μπορεί να περιέχουν μεμονωμένα, θετικά για υπεροξειδάση νησίδα ζύμωσης στο κυτταρόπλασμά τους, ακόμα και στις περιπτώσεις πρώιμων σταδίων κυτταρικής ανάπτυξης στα οποία η χρώση Pappenheim δεν υποδεικνύει πρωτεϊνικά κοκκία. Η πλειοψηφία των φυσιολογικών μονοκυττάρων παρουσιάζει επίσης μια θετική για υπεροξειδάση αντίδραση.Εδώ, ωστόσο, σε σύγκριση με το αποτέλεσμα για τα ουδετερόφιλα και τα ηωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα η χρώση είναι σημαντικά ασθενέστερη. Τα βασεόφιλα κοκκιοκύτταρα, καθώς επίσης και όλα τα κύτταρα της λεμφικής και ερυθροποιητικής αλληλουχίας είναι αρνητικά για υπεροξειδάση.

Αξιολόγηση

Οι πληθυσμοί λευκαϊκίων βλαστών που αντιδρούν μερικώς ή πλήρως θετικά για υπεροξειδάση είναι ενδεικτικοί οξείας μυελοβλαστικής λευκαϊμίας (AML). Λεμφοβλάστες και λεμφοειδή κύτταρα με σχετικότητα για τη διαφορική διάγνωση θα πρέπει πάντοτε να είναι αρνητικά για την υπεροξειδάση και τα ραβδία Auer – που σχετίζονται με οξεία μυελοβλαστική λευκαϊμία – θα χρώνονται σε εμφανώς ισχυρό βαθμό. Μια αρνητική αντίδραση υπεροξειδάσης, ωστόσο, δεν αποκλείει αυτομάτως την παρουσία οξείας μυελοβλαστικής λευκαϊμίας. Για τη διευκόλυνση της αναμφισβήτητης ταξινόμησης των διαφόρων μορφών οξείας μυελοβλαστικής λευκαϊμίας (μυελοβλαστική, προμυελοκυτταρική και μυελομονοκυτταρική), πρέπει να πραγματοποιείται μια πρόσθετη αντίδραση εστεράσης. Εάν η αντίδραση εστεράσης είναι κάτω από 50% θετική, θα πρέπει να μετρηθεί το ακριβές ποσοστό των θετικών για υπεροξειδάση κυττάρων στον αντίστοιχο πληθυσμό βλαστών. Μια πρόσθετη διαφοροποίηση των θετικών για υπεροξειδάση/εστεράση κυττάρων ανά βαθμούς ισχύος, ωστόσο, δεν απαιτείται εδώ.

Τρεις διαφορετικοί τύποι αντιδράσεων διαφοροποιούνται σε περιπτώσεις θετικής για υπεροξειδάση λευκαϊμίας:

POX τύπου 1:	έως 5% θετικοί για υπεροξειδάση βλάστες	AML χωρίς τάση ωρίμανσης, δεν αποκλείεται AUL ή ALL
POX τύπου 2:	5% έως 65% θετικοί για υπεροξειδάση βλάστες	AML χωρίς τάση ωρίμανσης ή AMMoL
POX τύπου 3:	πάνω από 65% θετικοί για υπεροξειδάση βλάστες	AML με τάση ωρίμανσης έως και AProL

- AML = Οξεία μυελοβλαστική λευκαϊμία
- AUL = Οξεία αδιαφοροποίητη λευκαϊμία
- ALL = Οξεία λεμφική λευκαϊμία
- AMMoL = Οξεία μυελομονοκυτταρική λευκαϊμία
- AProL = Οξεία προμυελοκυτταρική λευκαϊμία

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 κιτ LEUCOGNOST® POX - Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε λευκοκύτταρα σε θερμοκρασία +2°C έως +8°C.

Διάρκεια ζωής

Το κιτ LEUCOGNOST® POX - Ανίχνευση της αντίδρασης υπεροξειδάσης σε 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 παρασκευασμένο διάλυμα χρώσης είναι άχρωμο και παραμένει σταθερό για 3 ώρες.

Ικανότητα

Το κιτ 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 παρασκευασμα 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 100974	Μετουσιωμένη αιθανόλη με περίπου 1% μεθυλαιθυλική κετόνη για ανάλυση EMSURE®	1 l, 2,5 l
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 κινδύνου

Αρ. καταλόγου 1.16303.0002 Παρακαλούμε ανατρέξτε στην ταξινόμηση κινδύνου που είναι εκτυπωμένη επί της ετικέτας και στις πληροφορίες που παρέχονται στο φύλλο δεδομένων ασφαλείας. Το φύλλο δεδομένων ασφαλείας διατίθεται στον ιστότοπο και κατόπιν αιτήματος.

Κύρια συστατικά του προϊόντος

Αρ. καταλόγου 1.16303.0002		
Αντιδραστήριο 1		
4-χλωρο-1-ναφθόλη		75 µmol
Αντιδραστήριο 2		
Ρυθμιστικό διάλυμα τρις(υδροξυμεθυλο)αμινομεθανίου-HCl		43,4 mmol
Αντιδραστήριο 3		
Υπεροξειδίο του υδρογόνου		30 g/l

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 109204	Διάλυμα Giemsa κυανούν ηωσίνης- μεθυλενίου (Giemsa's azur-eosin- methylene blue solution) για μικροσκοπία	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Αρ. καταλόγου 111674	Hemacolor® Σετ ταχείας χρώσης αιματικού επιχρίσματος για μικροσκοπία	1 σετ
Αρ. καταλόγου 116300	LEUCOGNOST® ALPA Ανίχνευση δραστηριότητας αλκαλικής φωσφατάσης λευκοκυττάρων σε λευκοκύτταρα	12 μονάδες
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 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: 2017-10-04

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

