

1.16301.0002

Microscopía

LEUCOGNOST® EST

identificación de la reacción de α -acetato de naftilo-esterasa en leucocitos

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

CE

Kit de reactivos citoquímicos para diagnóstico de la leucemia

El presente kit de “LEUCOGNOST® EST - identificación de la reacción de α -acetato de naftilo-esterasa 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 α -acetato de naftilo-esterasa en leucocitos.

Principio

Las reacciones de esterases con diversos sustratos facilitan la diferenciación entre leucemias mieloblásticas y monoblásticas. Aparte de la reacción de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasas, cuyo poder declarativo es comparable al de la reacción de las peroxidasas, la reacción de 1-naftilo-acetato-esterasas es adecuada sobre todo para la delimitación de leucemias monoblásticas.

Las 1-naftilacetato-esterasas aceleran la disgregación hidrolítica del acetato de 1-naftilo en ácido acético y 1-naftol, que se acopla con una sal de diazonio para dar un azocolorante pardo rojizo insoluble en agua.

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. 1.16301.0002
LEUCOGNOST® EST
identificación de la reacción de α -acetato de naftilo-esterasa en leucocitos

Componentes del envase:			
El kit de tinción contiene			
Reactivo 1: LEUCOGNOST® EST Tampón de fosfatos			
Reactivo 2: LEUCOGNOST® EST Acetato de 1-naftilo			
Reactivo 3: LEUCOGNOST® EST Solución de pararosanilina-HCl			
Reactivo 4: LEUCOGNOST® EST Solución de nitrito			
1 cuchara dosificadora			

Necesario además:			
Art.	100014	Acetona para análisis EMSURE® ACS, ISO, REag. Ph Eur	1 l, 2,5 l, 5 l
Art.	108562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
Art.	109249	Hemalumbre en solución según Mayer para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art.	112327	LEUCOGNOST® mezcla fijadora para citoquímica de enzimas	500 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 de tinción	
Utilizar solamente soluciones recién preparadas.	
Reactivo 1 (tampón de fosfatos)	2 cucharadas dosificadoras rasas (adjunta; 1 cucharada = 0,8 g)
Agua destilada	60 ml
Disolver el reactivo completamente = solución A	

Reactivo 2 (acetato de 1-naftilo)	contenido completo del frasco
Acetona	2 ml
Disolver el reactivo completamente en la acetona y con agitando o revolviendo vigorosamente añadirla de la solución A = solución B	

Reactivo 3 (solución de pararosanilina-HCl)	4 -5 gotas (0,2 ml)
Reactivo 4 (solución de nitrito)	4 -5 gotas (0,2 ml)
Mezclar en el frasco vaciando del reactivo 2 y dejar en reposo 1 minuto (tiempo de diazoción) = solución C	
Mezclar bien las soluciones B y C	
filtrar a través de un filtro de paso rápido a la cubeta de tinción de Hellendahl = solución de tinción	

La solución de tinción preparada es utilizable durante 2,5 horas como máximo. Por consiguiente, la tinción debería ser efectuada a más tardar 15 min después de haberse realizado la preparación.

Técnica

Tinción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl

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.

Portaobjetos con frotis fijado	
Introducir en solución de tinción recién preparada Incubación a oscuras	1 - 2 horas
Enjuagar con agua destilada	10 segundos
Contratinción con hemalumbre en solución según Mayer	30 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo (azular)	2 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 5 días; si se cubre con aceite de inmersión, la estabilidad será de sólo unas horas.

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

Resultado

La 1-naftilacetato-esterasa muestra en todas las células de la hematopoyesis una reacción débil. Reaccionan de forma intensificada especialmente los monocitos, las células plasmáticas, los eritroblastos y los megacariocitos. La reacción de color pardo rojiza, granulosa, en el kit presente está ajustada de tal manera que prácticamente sólo quedan representados los monoblastos / monocitos leucémicos de mayor reaccionabilidad.

Evaluación

Para la clasificación de leucemias agudas se determina el porcentaje de blastos esterasa positivos y se realiza la siguiente clasificación teniendo en cuenta reacciones simultáneas de peroxidasas de diferente graduación:

Tipo peroxidasas:	menos del 25 % blastos EST-positivos	AML, AProL
Tipo mixto POX-EST:	25 % - 50 % blastos EST-positivos	AMMoL
Tipo esterasas:	más de 50 % blastos EST-positivos	AMoL

AML = leucemia mieloblástica aguda
AProL = leucemia promielocítica aguda
AMMoL = leucemia mielomonocítica aguda
AMoL = leucemia monocítica aguda

Notas técnicas

El microscopio usado debería corresponder a los requisitos de un laboratorio de diagnóstico médico.
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® EST - identificación de la reacción de α-acetato de naftilo-esterasa en leucocitos de +2 °C a +8 °C.

Estabilidad

El kit de LEUCOGNOST® EST - identificación de la reacción de α-acetato de naftilo-esterasa en leucocitos puede usarse hasta la fecha de caducidad indicada.
Después de abrir el frasco por primera vez, el contenido almacenado entre +2 °C y +8 °C es utilizable hasta la fecha de caducidad indicada.
Los frascos deben mantenerse siempre bien cerrados.
La solución de tinción recién preparada es utilizable durante 2,5 horas como máximo.

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.

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. 100014	Acetona para análisis EMSURE® ACS,ISO,REag. Ph Eur	1 l, 2,5 l, 5 l
Art. 100974	Etanol desnaturalizado con aprox. 1 % de metiltilcetona para análisis EMSURE®	1 l, 2,5 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. 109249	Hemalumbre en solución según Mayer para microscopía	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 112327	LEUCOGNOST® mezcla fijadora para citoquímica de enzimas	500 ml

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.16301.0002
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. 1.16301.0002		
Reactivo 1		
Tampón de fosfatos		80 mmol
Reactivo 2		
Acetato de 1-naftilo		130 µmol
Reactivo 3		
Pararosanilina-HCl		1,235 mmol/l
Reactivo 4		
Solución de nitrito		5,8 mmol

Otros productos de IVD


Art. 109204	Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 115355	CYTOCOLOR® Tinción citológica estándar según Szczepanik para microscopía	6x 500 ml
Art. 116300	LEUCOGNOST®-ALPA Identificación de la actividad de la fosfatasa alcalina en leucocitos	12 units
Art. 116302	LEUCOGNOST® PAS detección de la reacción ácido peryódico Schiff en leucocitos	12 units
Art. 116303	LEUCOGNOST® POX Detección de la reacción de la peroxidasa en leucocitos	12 units
Art. 116304	LEUCOGNOST® AP detección de la reacción de la fosfatasa ácida en leucocitos	12 units
Art. 117198	LEUCOGNOST® NASDCL nuevo detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos	12 units

Literatura


- Löffler, H., Rastetter, J., Haferlach, T, Atlas der klinischen Hämatologie, 2004, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Routine Cytological Staining Techniques: Theoretical Background and Practice, Mathilde E. Boon, Johanna S. Drijver, 1986, Elsevier Science Publishing Company
- 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




Consult instructions for use




Manufacturer




Catalog number




Batch code



Caution, consult accompanying documents



Use by YYYY-MM-DD



Temperature limitation

Status: 2017-10-05

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

