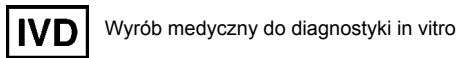


1.16300.0002

Mikroskopia

LEUCOGNOST® ALPA

wykrywanie aktywności fosfatazy
alkalicznej leukocytów w leukocytach



Zestaw odczynników cytochemicznych do diagnostyki białaczki
Zestaw „LEUCOGNOST® ALPA – wykrywanie aktywności fosfatazy alkalicznej leukocytów w leukocytach” jest wykorzystywany w procesie medycznej diagnostyki komórek ludzkich i służy do hematologicznej i cytologicznej oceny próbek pochodzenia ludzkiego. Jest to zestaw do barwienia, który w połączeniu z innymi produktami do diagnostyki in vitro z naszej oferty umożliwia ocenę diagnostyczną docelowych struktur (poprzez utrwalanie, barwienie, jeśli jest to wymagane – barwienie kontrastujące, zamykanie) próbek hematologicznych i kliniczno-cytologicznych, np. rozmazów krwi pełnej i szpiku kostnego.
Zestaw służy do barwienia w komorach Hellendahla 60 ml i zawiera wszystkie odczynniki wymagane do wykrywania aktywności fosfatazy alkalicznej leukocytów (ALPA) w leukocytach.

Zasada działania

Ocena aktywności (wskaźnika stężenia) fosfatazy alkalicznej leukocytów umożliwia cytochemiczne różnicowanie przewlekłej białaczki szpikowej (CML) z innymi chorobami mieloproliferacyjnymi, a w szczególności z mielofibrozą i policytemią lub innymi procesami zapalnymi lub nowotworowymi. Wskaźnik stężenia fosfatazy alkalicznej jest ponadto prostym parametrem prognostycznym w CML, ponieważ odzwierciedla poszczególne fazy aktywności tej choroby hematologicznej.
Fosfataza alkaliczna leukocytów jest katalizatorem w procesie hydrolizy estrów fosforanowych w roztworze zasadowym. 1-naftol uwolniony z 1-naftylofosforanu wiąże się z solą diazoniową, formując brązowy barwnik azowy, który ulega wytrąceniu odpowiednio do lokalizacji i poziomu ALPA w komórce.

Materiały do próbek

Jako materiał do wszelkich procedur barwienia należy stosować odwirowany materiał komórkowy i rozmazy ze świeżej krwi natywnej lub szpiku kostnego. Wykorzystanie EDTA jako antykoagulantu znacznie zmniejsza reakcję peroksydazy. W żadnym przypadku nie zaleca się dodawania jakichkolwiek antykoagulantów.

Odczynniki

Nr kat.	LEUCOGNOST® ALPA
1.16300.0002	wykrywanie aktywności fosfatazy alkalicznej leukocytów w leukocytach

Zawartość opakowania:

Zestaw do barwienia zawiera:

Odczynnik 1:	LEUCOGNOST® ALPA Tris(hydroksymetylo)aminometan
Odczynnik 2:	LEUCOGNOST® ALPA 1-naftylofosforan sodu, sól
Odczynnik 3:	LEUCOGNOST® ALPA Variamin® sól błękitna B

1 łyżka miarowa

Również wymagane:

Nr kat. 108562	Aquatex® (wodny środek do szybkiego przygotowywania preparatów do mikroskopii)	Butelka z zakraplaczem 50 ml
Nr kat. 109249	Hemalum Mayera, roztwór do mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 112327	LEUCOGNOST® mieszanina środków utrwalających do cytochemii enzymów	500 ml

Przygotowywanie próbek

Próbki muszą być pobierane przez wykwalifikowany personel.
Należy stosować cienkie rozmazy krwi lub szpiku kostnego wysuszone na powietrzu, które były przechowywane nie dłużej niż trzy dni.
Rozmazy muszą być poddane suszeniu na powietrzu przez co najmniej 30 minut oraz utrwalone zgodnie z odpowiednimi instrukcjami przed właściwą reakcją cytochemiczną.

Utrwalić wysuszone na powietrzu rozmazy krwi lub szpiku kostnego w mieszanice utrwalającej LEUCOGNOST®.	1 - 3 min
Opłukać bieżącą wodą z kranu.	10 sek.
Wysuszyć na powietrzu	

Po utrwaleniu rozmazy można przechowywać w chłodziarce przez 3 dni.

Wszystkie próbki muszą być przetwarzane z użyciem najnowocześniejszych technologii.
Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone.
Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich instrumentów.
Postępować zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi zastosowania/ użytkowania.

Przygotowywanie odczynnika

Roztwór do barwienia

Używać wyłącznie świeżo przygotowanych roztworów.

Odczynnik 1 (Tris(hydroksymetylo)aminometan)	4 płaskie łyżki miarowe (w zestawie; około 1,1 g)
Woda destylowana	100 ml
Całkowicie rozpuścić odczynnik = roztwór A .	

Odczynnik 2 (1-naftylofosforan sodu, sól)	Całkowita zawartość butelki
Roztwór A	15 ml
Splukać odczynnik za pomocą 15 ml roztworu A do komory Hellendahla = roztwór B .	

Odczynnik 3 (Sól błękitna Variamin® B)	Całkowita zawartość butelki
Roztwór A	45 ml
Splukać odczynnik za pomocą 45 ml roztworu A do kolby Erlenmeyera. Energicznie wstrząsać przez 2 min. Przefiltrować do komory do barwienia zawierającej roztwór B, używając filtra pełnego przepływu. Dobrze wymieszać = roztwór do barwienia	

Roztwór do barwienia przygotowany w ten sposób pozostaje stabilny przez maks. 90 minut.
Roztwór odczynnika ma barwę czerwono-brązową i szybko mętnieje.
Zmętnienie nie ma jednak wpływu na jakość barwienia.

Procedura

Barwienie w komorze Hellendahla 60 ml

Szkiełka na leży zanurzyć i przez chwilę poruszać nimi w roztworach.
Samo zanurzenie spowoduje uzyskanie niewłaściwych rezultatów barwienia.
Po każdym z etapów w procesie barwienia preparaty należy pozostawić do okapania, aby uniknąć niepotrzebnego krzyżowego zanieczyszczenia roztworów.
W celu zagwarantowania optymalnych rezultatów barwienia należy stosować się do zalecanych czasów.

Szkiełko z utrwalonym rozmazem	
Umieścić w świeżo przygotowanym roztworze do barwienia.	10 - 15 min
Opłukać wodą destylowaną.	
Wysuszyć na powietrzu	
Przeprowadzić barwienie kontrastujące za pomocą roztworu hemalum Mayera.	5 min
Opłukać bieżącą wodą z kranu.	1 - 3 min
Osuszyć na powietrzu (np. przez noc lub w temp. 50°C w suszarce)	
Jeśli to wymagane, zamknąć za pomocą środka Aquatex® i szkiełka nakrywkowego.	

Aby umożliwić przechowywanie próbek hematologicznych przez kilka miesięcy, zaleca się przykrycie ich wodnym środkiem zamykającym (np. Aquatex®) oraz szkiełkiem nakrywkowym. Jeżeli preparat nie zostanie zamknięty, barwnik pozostanie stabilny przez ok. 3 dni, zanurzony w olejku immersyjnym zaledwie przez kilka godzin.
Użycie olejku immersyjnego jest zalecane na potrzeby analizy barwionych preparatów przy powiększeniu mikroskopowym >40x.

Wynik

Brązowy produkt reakcji jest obecny wyłącznie w ostatnich, dojrzałych stadiach granulopoezy. Ocenie należy poddać 100 neutrofilów z jądrami segmentowanymi; w przypadku neutropenii zawartość jąder pałeczkowatych może wynosić maks. 10%.

Policzyć według stopni wybarwienia, korzystając z poniższej 5-stopniowej skali natężenia koloru.

- Stopień natężenia 0: brak reakcji
- Stopień natężenia 1: pojedyncze lub nieliczne ziarnistości
- Stopień natężenia 2: wiele ziarnistości zlokalizowanych miejscowo
- Stopień natężenia 3: ziarnistości rozproszone
- Stopień natężenia 4: komórka całkowicie pokryta ziarnistościami
- Stopień natężenia 5: maks. liczba ziarnistości, jądro często niewidoczne

Ocena

Otrzymane wartości odsetkowe należy pomnożyć przez współczynniki dla odpowiadającej im klasy reakcji, a następnie dodać wyniki mnożenia, aby otrzymać bezwymiarowy wskaźnik ALPA.

Przykład oceny:

Liczba komórek (%)	x	Stopień natężenia	=	Wynik
8	x	0	=	0
42	x	1	=	42
24	x	2	=	48
12	x	3	=	36
7	x	4	=	28
7	x	5	=	35
Suma = wskaźnik ALPA			=	189
Zakres normalny: 10 to 100				

Obniżony wskaźnik jest cechą patognomoniczną aktywnej fazy przewlekłej białaczki szpikowej. Porównywalnie niskie wartości wskaźnika występują jedynie w przypadku niedokrwistości hemolitycznych, niedokrwistości z niedoboru żelaza lub pojedynczych chorób wirusowych. Prawidłowe i podwyższone wartości dopuszczają szereg różnych interpretacji, tak więc nie są przydatne w procesie różnicowania. Przewlekłe białaczki szpikowe w fazie remisji również mogą wykazywać prawidłowe lub nawet podwyższone wartości ALPA. Ogólnie rzecz ujmując, im wyższy wskaźnik, tym intensywniejsze nekrobiotyczne reakcje kataboliczne (np. zapalne upływnianie tkanek) zachodzą w procesach zapalnych lub nowotworowych.

Uwagi techniczne

Używany mikroskop powinien spełniać wymogi laboratorium diagnostyki medycznej. Przed przystąpieniem do przechowywania należy usunąć nadmiar olejku immersyjnego.

Diagnostyka

Diagnozy może stawiać wyłącznie odpowiednio upoważniony i przeszkolony personel. Należy używać obowiązującego nazewnictwa. Należy wyznaczyć i przeprowadzić dalsze badania zgodnie z uznanymi metodami. Podczas każdego zastosowania należy korzystać z materiałów kontrolnych w celu zweryfikowania wyników.

Przechowywanie

Zestaw LEUCOGNOST® ALPA – wykrywanie aktywności fosfatazy alkalicznej leukocytów w leukocytach należy przechowywać w temperaturze od +2°C do +8°C.

Okres przydatności do użycia

Zestawu LEUCOGNOST® ALPA – wykrywanie aktywności fosfatazy alkalicznej leukocytów w leukocytach nie należy używać po upływie wskazanego terminu przydatności do użycia. Po otwarciu butelki po raz pierwszy zawartość nadaje się do użycia do wskazanego terminu przydatności do użycia, jeżeli wyrób jest przechowywany w temperaturze od +2°C do +8°C. Podczas przechowywania butelki powinny zawsze pozostawać szczelnie zamknięte. Świeżo przygotowany roztwór do barwienia pozostaje stabilny przez maks. 90 min.

Pojemność

Zestaw barwiący wystarcza na 12 barwień dla maksymalnie 16 preparatów. Jednocześnie można barwić maksymalnie 8 preparatów mikroskopowych lub 16 postawionych obok siebie w komorach Hellendahla 60 ml z rozszerzeniem (odpowiada jednemu preparatowi do barwienia).

Dodatkowe instrukcje

Wyłącznie do użytku przez specjalistów. W celu uniknięcia błędów wyrobu powinien używać wyłącznie wykwalifikowany personel. Należy przestrzegać krajowych wytycznych w zakresie bezpieczeństwa pracy i kontroli jakości. Należy używać mikroskopów, których wyposażenie odpowiada obowiązującym normom.

Ochrona przed zakażeniem

Należy stosować skuteczne środki ochrony przed zakażeniami zgodne z wytycznymi laboratoryjnymi.

Instrukcje dotyczące utylizacji

Opakowanie należy zutylizować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi usuwania odpadów. Zużyte roztwory i roztwory po terminie przydatności do użycia należy zutylizować zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi odpadów specjalnych. Informacje dotyczące utylizacji można znaleźć, korzystając z łącza „Hints for Disposal of Microscopy Products” („Wskazówki dotyczące utylizacji produktów do mikroskopii”) w witrynie www.microscopy-products.com. Na terenie UE obowiązuje obecnie rozporządzenie (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006.

Odczynniki pomocnicze

Nr kat. 104699	Olejek immersyjny do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 100 ml, 500 ml
Nr kat. 108562	Aquatex® (wodny środek do szybkiego przygotowywania preparatów) do mikroskopii	Butelka z zakraplaczem 50 ml
Nr kat. 109249	Hemalum Mayera, roztwór do mikroskopii	500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 112327	LEUCOGNOST® mieszanka środków utrwalających do cytochemii enzymów	500 ml

Klasa bezpieczeństwa

Nr kat. 1.16300.0002 Należy stosować się do klasyfikacji zagrożeń wydrukowanej na etykiecie i informacji podanych w karcie charakterystyki substancji chemicznej. Karta charakterystyki substancji chemicznej jest dostępna w witrynie internetowej i na żądanie.

Główne składniki produktów

Nr kat. 1.16300.0002		
Odczynnik 1		
Tris(hydroksymetylo)aminometan	130	mmol
Odczynnik 2		
1-naftylofosforan sodu, sól	120	µmol
Odczynnik 3		
Variamin® sól błękitna B	68	mg

Inne wyroby do diagnostyki in vitro

Nr kat. 101424	Eozyna i błękit metylenowy May-Grünwalda, roztwór modyfikowany do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 109016	Neo-Mount® bezwodny środek do zamykania preparatów do mikroskopii	100 ml – butelka z zakraplaczem, 500 ml
Nr kat. 109204	Lazur Giemsy eozyna i błękit metylenowy, roztwór do mikroskopii	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Nr kat. 109843	Neo-Clear® (substytut ksylenu) do mikroskopii	5 l
Nr kat. 115355	CYTOCOLOR® do standardowego barwienia cytologicznego wg Szczepanika do mikroskopii	6 x 500 ml
Nr kat. 116301	LEUCOGNOST® EST wykrywanie reakcji esterazy z octanem α -naftyłu w leukocytach	12 jednostek
Nr kat. 116302	LEUCOGNOST® PAS wykrywanie reakcji Schiffa z kwasem nadjodowym w leukocytach	12 jednostek
Nr kat. 116303	LEUCOGNOST® POX wykrywanie reakcji peroksydazy w leukocytach	12 jednostek
Nr kat. 116304	LEUCOGNOST® AP wykrywanie reakcji fosfatazy kwaśnej w leukocytach	12 jednostek
Nr kat. 117198	LEUCOGNOST® NASDCL nowy wykrywanie esterazy chlorooctanu naftolu (AS-D) w granulocytach	12 jednostek

Literatura

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



Zapoznać się
z instrukcją
użytkowania



Producent



Numer katalogowy



Kod partii



Uwaga: należy zapoznać
się z dokumentacją
towarzystującą.



Termin przydatności
do użycia:
RRRR-MM-DD



Ograniczenie
temperatury

Status: 2017-09-19

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Niemcy
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

