

Microscopía

LEUCOGNOST® NASDCL nuevo

detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Kit de reactivos citoquímicos para diagnóstico de la leucemia

El presente kit de "LEUCOGNOST® NASDCL nuevo - detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos" es utilizado para el diagnóstico celular en la medicina humana, se emplea en el examen hematológico, citológico y histológico 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, clínico-citológico y histológico, como p.ej. frotis de sangre total y de médula ósea o punciones de la cresta ilíaca.

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 detectar la naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos.

Principio

La naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa produce la hidrólisis enzimática del cloroacetato de naftol-AS-D para dar un compuesto de naftol. Éste reacciona en una reacción de acoplamiento con una sal de diazonio para dar un azocolorante rojo 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. El uso de EDTA como anticoagulante debilita algo la reacción de enzima, un aditivo conveniente de sustancia inhibidora de la coagulación sería heparina de litio.

Cortes de tejido fijados con formalina, eventualmente descalcificados, incluidos en parafina (cortes de parafina con 2 - 3 µm de espesor)

Material histológico (p.ej. punciones de la cresta ilíaca)

Reactivos

Art. 1.17198.0001

LEUCOGNOST® NASDCL nuevo

detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos

Componentes del envase:

El kit de tinción contiene

Reactivo 1: LEUCOGNOST® NASDCL nuevo	Tampón tris concentrado	2x 62 ml
Reactivo 2: LEUCOGNOST® NASDCL nuevo	Naftol-AS-D-cloroacetato	12x 20 mg
Reactivo 3: LEUCOGNOST® NASDCL nuevo	Dimetilformamida (DMF)	1x 13 ml
Reactivo 4: LEUCOGNOST® NASDCL nuevo	Solución de Pararosanilina	12x 1 ml
Reactivo 5: LEUCOGNOST® NASDCL nuevo	Solución de nitrito sódico	1x 7 ml

Necesario además:

Art. 108562	Aquatex® (medio de montaje acuoso) para microscopía	frasco gotero de 50 ml
Art. 112327	LEUCOGNOST® mezcla fijadora para citoquímica de enzimas	500 ml

para la tinción de frotis secados al aire:

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

para la tinción de cortes de parafina:

Art. 105175	Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía	500 ml, 2,5 l
-------------	--	---------------

Preparación de las muestras

Frotis secados al aire

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.

Pretratamiento de punciones de médula ósea y de cresta iliaca

Los resultados óptimos se obtienen utilizando OSTEOSOFT® solución descalcificadora suave, art. 101728.

Una vez fijadas, las muestras obtenidas se sumergen durante 18 - 24 horas en OSTEOSOFT® para su descalcificación no agresiva y seguidamente se someten al histoprocesamiento.

Se cortan cuidadosamente pequeños bloques que, si fuese necesario, pueden volver a tratarse durante 20 minutos con OSTEOSOFT®.

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.

Preparar la solución de tinción inmediatamente antes de su uso y eliminarla directamente después de la tinción.

La colocación en la solución de tinción con un retardo de 5 minutos ya puede causar una atenuación del resultado. La solución de tinción realizada **puede ser utilizada durante 35 minutos como máximo**.

Para preparar la solución de tinción se añaden juntos:

Agua destilada	50 ml
Reactivo 1 (tampón tris concentrado)	10 ml
Disolver el reactivo completamente = solución A	

Reactivo 3 (solución de dimetilformamida)	1 ml
Reactivo 2 (naftol-AS-D-cloroacetato)	1 frasco
Pipetear el reactivo 3 al reactivo 2 Disolver los reactivos completamente = solución B	

Añadir la solución B a la solución A (enjuagar con algunos ml de solución A), mezclar bien = solución C (la solución es lechosa-turbia)	
---	--

Reactivo 5 (solución de nitrato sódico)	15 gotas
Reactivo 4 (solución de pararosanilina)	1 frasco
Añadir el reactivo 5 a il reactivo 4 y mezclar = solución D	

Añadir la solución D a la solución C (enjuagar con algunos ml de solución C), mezclar y filtrar a través de un filtro de papel = solución de tinción*	
---	--

* La solución de tinción realizada ha de ser utilizada inmediatamente después del filtraje.

Técnica

Frotis secados al aire

Tinción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl

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 de tinción recién preparada	30 minutos
Agitar con fuerza en agua destilada	
Introducir en agua destilada	5 minutos
Contratinción con hemalumbre en solución según Mayer	5 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo	5 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.

Cortes de parafina

Tinción en la cubeta de 60 ml de Hellendahl

Desparafinar de forma habitual los preparados histológicos y rehidratar en serie descendente de alcohol.

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 preparado histológico	
Agua destilada	10 segundos
Introducir en solución de tinción recién preparada	30 minutos
Agitar con fuerza en agua destilada	
Introducir en agua destilada	3 minutos
Contratinción con Hematoxilina en solución modificada según Gill II	2 minutos
Enjuagar con agua corriente del grifo	5 minutos
Montar con Aquatex® y cubreobjetos.	

Resultado

Granulocitos neutrófilos rojo
Núcleos celulares azul

La naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa muestra una clara reacción en granulocitos maduros e inmaduros.

En mielocitos, metamielocitos y mastocitos de tejido se pueden detectar actividades enzimáticas intensas. Las reacciones son más débiles en abastoados y segmentados.

Se encuentran actividades enzimáticas parcialmente en mieloblastos leucémicos, promielocitos y en bastoncillos de Auer.

Los monocitos muestran actividades ocasionalmente.

Eosinófilos, basófilos, megacariocitos, linfocitos, células plasmáticas y los precursores de los hemocitos rojos no muestran reacciones, o sólo muy débiles.

Localización de errores

Los métodos de detección de enzimas pueden resultar difíciles y exigen un especial cuidado al aplicarlos.

Frotis secados al aire

Imagen microscópica	Posible causa	Remedio
Reacción demasiado débil	Se ha usado sangre con anticoagulantes (EDTA/citrato)	Utilizar heparina de litio como anticoagulante
Precipitación rojiza	Solución de tinción floclula	Filtrar la solución de tinción, ver "Preparación de reactivos"
Reacción demasiado débil	Frotis demasiado grueso	Frotis más delgado
Reacción muy débil	Solución de tinción no ha sido utilizada inmediatamente	Poner los preparados directamente después de su preparación en la solución de tinción

Cortes de parafina

Imagen microscópica	Posible causa	Remedio
Reacción demasiado débil	Preparado de corte demasiado grueso	Cortes más delgados, máx. 2 - 3 µm
Tinción de núcleo celular demasiado fuerte	Solución de hematoxilina o tiempo de incubación inadecuados	Contratinción con Hematoxilina en solución modificada según Gill II, ver "Técnica - Cortes de parafina"
Reacción demasiado débil	Superposición de la reacción por solución de hematoxilina demasiado fuerte	Contratinción con Hematoxilina en solución modificada según Gill II, ver "Técnica - Cortes de parafina"
Fondo ligeramente rojizo del portaobjetos	Portaobjetos recubiertos	Uso de portaobjetos sin recubrimiento
Reacción muy débil	Solución de tinción no ha sido utilizada inmediatamente	Poner los preparados directamente después de su preparación en la solución de tinción

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 posteriores según métodos reconocidos.

Cada aplicación debería implicar controles adecuados para descartar resultados erróneos.

Almacenamiento

Guardar el kit de LEUCOGNOST® NASDCL nuevo - detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos de +2 °C a +8 °C.

Estabilidad

El kit de LEUCOGNOST® NASDCL nuevo - detección de naftol-AS-D-cloroacetato-esterasa en granulocitos 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 realizada ha de ser utilizada inmediatamente después del filtraje.

La colocación en la solución de tinción con un retardo de 5 minutos ya puede causar una atenuación del resultado. La solución de tinción realizada puede ser utilizada durante 35 minutos 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.

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. 101728	OSTEOSOFT® solución descalcificadora suave para histología	1 l, 10 l Titripac®
Art. 104699	Aceite de inmersión para microscopía	frasco gotero de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 105175	Hematoxilina en solución modificada según Gill II para microscopía	500 ml, 2,5 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

Clasificación de sustancias peligrosas

Art. 1.17198.0001

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. 1.17198.0001 (datos por botella)		
Reactivo 1		
Tampón tris		40,1 mmol
Reactivo 2		
Naftol-AS-D-cloroacetato		0,056 mmol
Reactivo 3		
Dimetilformamida		167,19 mmol
Reactivo 4		
Pararosanilina		0,062 mmol
Reactivo 5		
Sodio nitrato		10,14 mmol

Otros productos de IVD

Art. 101424	Eosina-azul de metileno en solución según May-Grünwald modificada para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 109204	Azur-eosina-azul de metileno según Giemsa en solución para microscopía	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 111674	Hemacolor® Tinción rápida de frotis sanguíneos kit de tinción para microscopía	1 set
Art. 116300	LEUCOGNOST®-ALPA Identificación de la actividad de la fosfatasa alcalina en leucocitos	12 units
Art. 116301	LEUCOGNOST® EST identificación de la reacción de α -acetato de naftilo-esterasa 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 fosfatasa ácida en leucocitos	12 units



Consult instructions for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult accompanying documents



Use by YYYY-MM-DD



Temperature limitation

Status: 2017-03-24

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

