

PAS

Colorazione citochimica su strisci di sangue o di midollo per la diagnosi differenziale delle leucemie acute

10 x 4 test

REF 3081

PREMESSA

Il kit è stato realizzato per diminuire i volumi dei reagenti, il contatto tra il laboratorista ed i reagenti tossici, facilitarne lo smaltimento e semplificare l'esecuzione del test.

Per il kit sono stati impiegati quei reagenti che in base alle attuali conoscenze risultano essere i meno tossici ed inquinanti.

PRINCIPIO DELLA REAZIONE

La reazione PAS (Periodic Acid - Schiff) è un metodo importante per l'identificazione di elementi cellulari linfatici.

Insieme alla reazione della perossidasi e della esterasi è una delle tre colorazioni citochimiche di importanza fondamentale per la diagnosi differenziale delle leucemie acute.

Il metodo prevede l'incubazione degli strisci di sangue o di midollo con acido periodico e il reattivo di Schiff.

La reazione evidenzia il glicogeno presente esclusivamente nel citoplasma: la sua ossidazione da parte dell'acido periodico determina da formazione di gruppi aldeidici liberi che, in presenza del reattivo di Schiff, danno luogo ad una intensa colorazione rosso porpora, particolarmente evidente nei granulociti.

L'intensità e la frequenza dei granuli colorati nelle cellule viene valutata al microscopio ottico.

Il kit può essere impiegato anche per distinguere una leucemia linfoblastica da una mieloblastica, dal momento che alcuni linfomi non Hodgkin e, soprattutto, la leucemia linfatica cronica, presentano un aumento del glicogeno cellulare.

REAGENTI E MATERIALI

Contenuto del kit:

REAGENT 1 Acido periodico	REF 3081
* REAGENT 2 Reattivo di Schiff	1 x 45 mL
PIASTRE multi-vaschette (4 vaschette per piastra)	10
COPERCHIO nero per le piastre	1

(*) I reagenti contrassegnati con l'asterisco contengono sostanze pericolose. Leggere le Schede di sicurezza.

STABILITÀ: a 2-8°C e ben chiusi si conservano inalterati fino alla data riportata sulla confezione.

REAGENTI NECESSARI NON FORNITI

FISSATIVO:

Preparazione della soluzione	formaldeide 37%	1 volume
di fissaggio dello striscio:	etanolo assoluto	9 volumi

CONTROCOLORAZIONE: ematosilina di Harris.

STRUMENTI E MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Microscopio ottico 400x o 1000x per la lettura dei vetrini.

Pipette con puntale monouso, oppure pipette Pasteur graduate per il prelievo e la distribuzione dei reagenti.

Timer.

Acqua deionizzata.

CAMPIONE

Strisci di sangue periferico (preferibilmente capillare) o di midollo.

I campioni di sangue possono essere raccolti con EDTA o eparina.

Gli strisci di sangue o di midollo possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26°C), protetti dalla polvere, per alcuni giorni senza che si verifichino apprezzabili cambiamenti di attività.

I vetrini fissati si conservano per molte settimane.

PROCEDIMENTO

A) FISSAGGIO DEI VETRINI (vedi osservazioni)

1. Fissare gli strisci seccati all'aria per 1 minuto mettendoli a contatto con il fissativo.

2. Lavare su entrambi i lati il vetrino con abbondante acqua deionizzata, scolarlo ed attendere che sia asciutto. Il fissativo contiene formaldeide. Anche una piccola quantità di formaldeide presente sui vetrini può provocare l'inibizione dell'enzima.

B) REAZIONE PAS

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima di utilizzarli.

1. Disporre su un piano le piastre multi-vaschette necessarie.

2. Appoggiare sulla piastra i vetrini con lo striscio rivolto verso il basso. Lo striscio deve essere rivolto verso il basso e cioè verso il fondo della vaschetta, altrimenti la soluzione di lavoro non andrà a contatto con lo striscio.

3. Spingere il vetrino contro uno dei due bordi lunghi della vaschetta. Tra l'altro lato maggiore del vetrino e quello della vaschetta si avrà una lunga fessura nella quale iniettare i reagenti.

4. Prelevare 1 mL di Reagent 1 con una pipetta o con una Pasteur. Inserire la punta della pipetta o della Pasteur nella zona centrale della fessura e iniettarvi lentamente il reagente.

Esso si distribuirà nella vaschetta entrando a contatto con lo striscio. Meno di 1 mL è sufficiente per riempire la vaschetta. Procedere allo stesso modo con gli altri vetrini.

5. Incubare 10 minuti a temperatura ambiente (18-26°C).

6. Prelevare i vetrini con una pinzetta o con le dita (indossando guanti monouso) e sciacquarli con acqua corrente per 10 minuti.

Per facilitare il prelievo premere leggermente un'estremità del vetrino in modo che si sollevi l'altra estremità.

7. Porre i vetrini su nuove piastre multi-vaschette.

8. Prelevare 1 mL di Reagent 2 ed iniettarlo nella fessura.

9. Incubare 30 minuti a temperatura ambiente (18-26°C).

10. Prelevare i vetrini e sciacquarli con acqua corrente per 5 minuti.

C) CONTROCOLORAZIONE (vedi osservazioni)

1. Controcolorare con ematosilina di Harris per 5 minuti.

2. Sciacquare con acqua corrente, asciugare e leggere al microscopio ottico.

RISULTATI

Il glicogeno si presenta in forma di granulazioni color rosso porpora nel citoplasma cellulare, mentre il nucleo è colorato in verde pallido.

Sono PAS positive:

- 1) le cellule della linea granulocitaria ad eccezione del mieloblasto.
- 2) le cellule della linea megacariocitaria caratterizzate da forte positività.

Sono PAS negative:

- 1) le cellule della linea plasmocitaria
- 2) le cellule della linea eritrocitaria normale
- 3) i linfociti normali.

PATOLOGIA

Gli eritroblasti della eritemia e della eritroleucemia si caratterizzano per una spiccata PAS positività di tipo granulare nei proeritroblasti e negli eritroblasti basofili, di tipo diffuso nelle ulteriori fasi maturative positive.

I linfoblasti della leucemia linfoblastica acuta sono frequentemente positivi (LLA-common) con positività di tipo granulare (alcuni granuli nel citoplasma) e questo aspetto viene utilizzato in diagnostica.

I megacario-blasti possono avere una positività periferica.

Le plasmacellule di solito sono positive.

Nella leucemia linfatica cronica (LLC), nel linfosarcoma e nel linfoma di Hodgkin, come del resto in alcune malattie infettive (es. la mononucleosi), è presente un aumentato numero di linfociti contenenti piccoli granuli PAS positivi.

OSSERVAZIONI

Le piastre possono essere utilizzate anche per il fissaggio e la controcolorazione. In questo caso disporre i vetrini come descritto nel paragrafo B) ed iniettare nella fessura la soluzione di fissaggio o il colorante invece dei reagenti. Per i tempi di fissaggio e di controcolorazione e i relativi lavaggi seguire i procedimenti descritti ai paragrafi A) e C).








SMALTIMENTO RIFIUTI

Smaltire i reagenti e i materiali usati secondo le normative del paese.

BIBLIOGRAFIA

Disponibile su richiesta.

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni per l'uso

IVD

CE

Ed. 03 - 12.2023 RR

PRODUTTORE



Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY
tel +39 045 6700870 - sito web <http://www.farddiag.com>

e-mail: order@farddiag.com - e-mail: farddiag@farddiag.com