

PERLS

Colorazione citochimica su strisci di sangue, di midollo o di sedimento urinario per la diagnosi dell'anemia sideropenica

10 x 4 test

REF 3098

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

Il ferro organico presente nel citoplasma cellulare reagisce con il ferricianuro di potassio in ambiente acido formando un complesso blu verde (blu di Prussia).

La colorazione rivela l'eventuale presenza dell'emosiderina negli eritrociti (siderociti), negli eritroblasti (sideroblasti) e nelle cellule reticolari fagocitanti.

La presenza dei granuli colorati nelle cellule è valutata al microscopio ottico.

Il kit viene utilizzato nella diagnosi di tutti i casi di ipo- o ipersiderosi, non solo a livello ematico ma anche urinario.

REAGENTI E MATERIALI

Contenuto del kit:

REAGENT 1 Ferrocianuro di potassio (liofilo)

REAGENT 2 Acido cloridrico 0.2 N

REAGENT 3 Ematossilina di Harris

PIASTRE multi-vaschette (4 vaschette per piastra)

COPERCHIO nero per le piastre

Leggere le Schede di sicurezza.

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

REF 3098

10 flaconi

1 x 50 mL

1 x 50 mL

10

1

REAGENTI NECESSARI NON FORNITI

FISSATIVO: metanolo assoluto.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

Pipette con puntale monouso o pipette Pasteur per il prelievo e la distribuzione dei reagenti.

Acqua distillata.

Acqua deionizzata.

CAMPIONE

Strisci di sangue (preferibilmente capillare), di midollo o di sedimento urinario (oppure citocentrifugati).

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.

PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

Aggiungere 2,5 mL di acqua distillata ad un flacone contenente il Reagent 1. Agitare delicatamente per inversione fino a solubilizzazione.

STABILITÀ: 30 giorni a 4°C e al riparo dalla luce.

PROCEDIMENTO

A) FISSAGGIO DEI VETRINI (vedi osservazioni)

1. Fissare gli strisci seccati all'aria mettendoli a contatto per 5 minuti con il fissativo.

2. Lavare entrambi i lati del vetrino con abbondante acqua deionizzata, scolarlo ed attendere che sia asciutto.

B) PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima di utilizzarli.

Svitare il tappo a vite di un flacone di Reagent 1 e togliere delicatamente il tappo in gomma.

1. Prelevare 2,5 mL di Reagent 2 con una pipetta o con una Pasteur ed aggiungerlo a un flacone di Reagent 1. Rimettere il tappo in gomma e agitare per inversione fino a completa solubilizzazione del liofilo.

STABILITÀ: usare la soluzione di lavoro subito dopo la preparazione.

C) COLORAZIONE DI PERLS

1. Disporre su un piano le piastre multi-vaschette necessarie. Ciascuna piastra e ciascun flacone di soluzione di lavoro consentono di eseguire 4 determinazioni

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 si inietterà la soluzione di lavoro.

4. Prelevare 1 mL di soluzione di lavoro con una pipetta o con una Pasteur. Inserire la punta della pipetta o della Pasteur nella zona centrale della fessura e iniettarvi lentamente la soluzione di lavoro. La soluzione 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. Coprire la piastra con il coperchio per ripararla dalla luce. Se si utilizzano più vaschette, sovrapporle una all'altra prima di coprirle. Incubare 30 minuti a temperatura ambiente (18-26°C).

6. Prelevare i vetrini con una pinzetta o con le dita (indossando guanti monouso) e sciacquarli bene con acqua distillata. Per facilitare il prelievo premere leggermente un'estremità del vetrino cosicché si sollevi l'altra.

D) CONTROCOLORAZIONE (vedi osservazioni)

1. Controcolorare con Reagent 3 per 5 minuti.

2. Sciacquare con acqua corrente, asciugare e leggere al microscopio. L'esperienza nelle tecniche di citochimica consente la valutazione dei vetrini senza controcolorazione.

RISULTATI

In condizioni normali, dal 20 al 50% degli eritroblasti presenta nel citoplasma piccoli granuli blu di ferro (sideroblasti).

Quando tali inclusioni circondano il nucleo la cellula prende il nome di sideroblasto ad anello.

Negli eritrociti inclusioni contenenti ferro si riscontrano in genere solo in individui splenectomizzati.

Nel midollo osseo, inoltre, si possono osservare macrofagi che accumulano ferro (sideromacrofagi).

PATOLOGIA

La colorazione di PERLS è particolarmente utile nella diagnosi dell'anemia sideropenica. In questa malattia, infatti, i sideroblasti sono fortemente diminuiti o addirittura assenti.

Nelle anemie sideroblastiche invece, il numero di granuli di ferro nei sideroblasti è marcatamente aumentato.

L'emosiderina è presente nel sedimento urinario di pazienti con emolisi intravascolare e viene rivelata dalla presenza di granuli liberi o granuli all'interno delle cellule epiteliali (es. emoglobinuria parossistica notturna).

OSSERVAZIONI

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








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

 FAR

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