

SUDAN BLACK B

Colorazione citochimica in strisci di sangue o di midollo per differenziare le leucemie granulocitiche da quelle monocitiche

10 x 4 test

REF 3099

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 colorazione con Sudan Nero B rileva la presenza di diversi tipi di lipidi intracellulari, inclusi i grassi neutri, i fosfolipidi e gli steroli, avvalendosi della proprietà dei grassi in generale di solubilizzare alcuni coloranti che vengono rimossi dalla loro soluzione alcolica.

Dopo la colorazione appaiono evidenti granuli lipidici di colore nero in tutta la serie granulocitaria, con progressivo aumento della positività dal mieloblasto al granulocito maturo.

Granuli lipidici sono pure presenti a livello dei bastoncini di Auer e possono talvolta comparire come fine dispersione citoplasmatica nella serie monocitaria.

Sono negativi al Sudan Nero B i linfociti, i linfoblasti e gli eritoblasti.

La presenza dei granuli è valutata al microscopio ottico.

Il kit viene utilizzato per riconoscere le cellule di origine monocitica e quindi per differenziare le leucemie granulocitiche da quelle monocitiche.

REAGENTI E MATERIALI

Contenuto del kit:

* REAGENT 1 Sudan nero B

* REAGENT 2 Tampone

REF 3099

1 x 30 mL

1 x 20 mL

TOSSICITÀ: contiene fenolo. Sostanza corrosiva, provoca ustioni.

In caso di contatto con gli occhi lavare immediatamente ed abbondantemente con acqua e consultare il medico.

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 temperatura ambiente, al riparo dalla luce e ben chiusi si conservano 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: soluzione Giemsa.

STRUMENTI E MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

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

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

Termostato a 37°C, per diminuire i tempi di incubazione.

Timer.

Acqua deionizzata.

Provette con tappo.

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) e 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 mettendoli a contatto per 1 minuto con il fissativo.

2. Lavare entrambi i lati del 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 inibizione dell'enzima.

B) PREPARAZIONE DELLA SOLUZIONE DI LAVORO

Portare i reagenti a temperatura ambiente prima di utilizzarli.

1. Prelevare 3 mL di Reagent 1 e metterli in una provetta.

2. Aggiungere 2 mL di Reagent 2 alla provetta.

Chiuderla col tappo e mescolare bene per inversione.

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

C) REAZIONE DEL SUDAN NERO B

1. Disporre su un piano le piastre multi-vaschette necessarie. Ciascuna piastra e ciascuna provetta 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. Porre la piastra in termostato a 37°C e coprirlo con il coperchio per ripararla dalla luce. Se si utilizzano più piastre, disporre una sull'altra prima di coprirle con il coperchio. Incubare per 15 minuti.

In alternativa incubare a temperatura ambiente (18-26°C) per 30 minuti.

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

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

7. Le piastre lavate ed asciugate possono essere utilizzate per la conservazione dei vetrini.

D) CONTROCOLORAZIONE (vedi osservazioni)

1. Controcolorare con la soluzione Giemsa per 10 minuti.

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

RISULTATI

I grassi sono evidenziati dalla presenza di granulazioni nere all'interno della cellula.

PATOLOGIA

La reazione è positiva nelle cellule mieloidi mature ed immature, mentre difficilmente si osserva una sudanofilia della serie linfoide.

La metodica è quindi utile in una diagnosi differenziale e per una classificazione delle leucemie acute.

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