

1.16302.0002

Microscopie

LEUCOGNOST® PAS

Détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes

IVD

Dispositif médical de diagnostic in vitro



Kit de réactifs cytochimiques pour le diagnostic de la leucémie

Le présent kit de « LEUCOGNOST® PAS - Détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes » est utilisé pour le diagnostic cellulaire dans la médecine humaine et sert à l'examen hématologique et cytologique d'échantillons d'origine humaine. C'est un kit de coloration, qui est utilisé conjointement avec d'autres diagnostics in vitro de notre portefeuille pour rendre des structures cibles analysables pour le diagnostic (par fixation, coloration, éventuellement contre-coloration, montage) dans des épreuves hématologiques et clinico-cytologiques, telles que les frottis de sang entier et de moelle osseuse.

Le présent kit de coloration est prévu pour la réaction en cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml. Il contient tous les réactifs nécessaires à la détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes. Les temps de réaction dans le présent coffret ont pu être nettement raccourcis, de manière qu'une réalisation est terminée en 45 min env. au maximum.

Principe

En hématologie la réaction PAS est une méthode importante pour identifier les éléments cellulaires lymphatiques. En plus de la réaction des peroxydases et des estérases, elle est l'une des trois colorations fondamentales cytochimiques importantes dans le diagnostic différentiel qui doivent être exécutées régulièrement dans les leucémies aiguës. Les frottis déjà colorés selon Pappenheim, peuvent être colorés en plus avec PAS, puis à nouveau décolorés par une solution à 1 % d'acide périodique.

L'acide périodique scinde les liaisons voisines carbone carbone des poly-saccharides (glycogène) quand les deux atomes de carbone portent des groupes hydroxyles. Les groupements alcooliques sont alors oxydés en aldéhydes qui sont ensuite rendus visibles avec le réactif de Schiff (solution à base de fuchisine acide) avec une couleur rouge intense.

En combinaison avec le kit, soit le Réactif de Schiff (art. 109033) peut être utilisé pour obtenir une coloration rouge vive, soit le Réactif de Schiff Intense (art. 102572) pour obtenir une coloration rouge encore plus intense. La différence consiste surtout dans les temps de réaction plus courts lors de l'utilisation du Réactif de Schiff Intense.

Matériel d'échantillon

Pour toutes les colorations, comme matériel de départ, il ne faut utiliser que des préparations provenant de la cytocentrifuge et des frottis de sang natif ou de moelle osseuse préparés extemporanément. L'utilisation d'EDTA p.ex. comme anticoagulant affaiblit nettement la réaction enzymatique par exemple. D'une manière générale, toute addition de substances anticoagulantes est d'ailleurs déconseillée.

Réactifs

Art. 1.16302.0002

LEUCOGNOST® PAS

Détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes

Composition d'emballage :

Le kit de coloration contient

Réactif 1 : LEUCOGNOST® PAS Acide périodique

Réactif 2 : LEUCOGNOST® PAS Potassium disulfite

Réactif 3 : LEUCOGNOST® PAS Acide chlorhydrique

Nécessaire en plus :

Art. 109033	Réactif de Schiff pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
ou		
Art. 102572	Réactif de Schiff Intense pour la détection d'aldéhydes et de mucosubstances dans la microscopie	1 l
Art. 109249	Hémalun en solution selon Mayer pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 112327	LEUCOGNOST® mélange de fixation Fixateur pour la cytochimie d'enzymes	500 ml
Art. 108562	Aquatex® (produit de montage aqueux) pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 50 ml

Préparation des échantillons

Le prélèvement d'échantillons doit être effectué par du personnel qualifié.

Il faut utiliser des frottis sanguins ou de moelle osseuse fins, séchés à l'air et datant de 3 jours maximum.

Il est nécessaire de laisser sécher les frottis à l'air pendant 30 minutes minimum et de les fixer conformément aux instructions respectives avant la réaction cytochimique.

Fixation des frottis sanguins ou de moelle osseuse séchés à l'air dans le mélange de fixation LEUCOGNOST®	1 - 3 minutes
Rincer à l'eau du robinet courante	10 secondes
Sécher à l'air	

Après la fixation, les frottis peuvent être conservés au réfrigérateur jusqu'à 3 jours.

Tous les échantillons doivent être traités conformément aux règles de l'art.

Tous les échantillons doivent être clairement identifiés.

Utiliser des instruments appropriés pour le prélèvement d'échantillons et la préparation, respecter les instructions du fabricant pour l'emploi / l'utilisation.

Préparation des réactifs

Solution A

Pour la préparation d'env. 60 ml de solution, il faut additionner :

Eau distillée	60 ml
Réactif 1 (acide périodique)	contenu entier de flacon
Dissoudre totalement le réactif et l'introduire dans la cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml = solution A	

Solution B

Pour la préparation d'env. 60 ml de solution, il faut additionner :

Eau distillée	60 ml
Réactif 2 (potassium disulfite)	contenu entier de flacon
Dissoudre totalement le réactif et l'introduire dans la cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml	
Réactif 3 (acide chlorhydrique)	2 ml
Ajouter et mélanger = solution B	

Toutes les solutions réactives préparées sont incolore et stable pendant 3 heures.

Mode opératoire

Coloration dans la cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml avec Réactif de Schiff, art. 109033

Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Porte-objet avec frottis fixé	
Immerger dans solution A	15 minutes
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Immerger dans solution B	1 minute
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Colorer dans Réactif de Schiff, art. 109033 à 20 - 25 °C	15 minutes
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Immerger à nouveau dans solution B	2 minutes
Immerger dans l'eau distillée	3 minutes
Contre-colorer avec l'hémalun en solution selon Mayer	3 minutes
Rincer à l'eau du robinet courante	3 minutes
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)	
Monter le cas échéant avec Aquatex® et une lamelle couvre-objets	

Pour stocker les préparations hématologiques pendant plusieurs mois, il est recommandé de les monter à l'aide d'un milieu de montage aqueux (p.ex. Aquatex®) et d'une lamelle couvre-objets. Sans montage, la coloration est stable environ 30 jours, et sous huile à immersion, pendant 3 jours seulement.

Coloration dans la cuve de coloration de Hellendahl de 60 ml avec Réactif de Schiff Intense, art. 102572

Il est nécessaire de plonger et de déplacer brièvement les lames porte-objets dans les solutions ; une simple introduction donne des résultats de coloration insuffisants.

Les lames porte-objets doivent être égouttées conformément aux procédures de coloration pour éviter tout transfert non nécessaire des solutions.

Pour obtenir un résultat de coloration optimal, il convient de respecter les durées indiquées.

Les préparations colorées avec le Réactif de Schiff Intense apparaissent colorées plus intensément.

Porte-objet avec frottis fixé	
Immerger dans solution A	5 minutes
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Immerger dans solution B	1 minute
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Colorer dans Réactif de Schiff Intense, art. 102572 à 20 - 25 °C	5 minutes
Rincer à l'eau distillée	10 secondes
Immerger à nouveau dans solution B	2 minutes
Immerger dans l'eau distillée	3 minutes
Contre-colorer avec l'hémalum en solution selon Mayer	3 minutes
Rincer à l'eau du robinet courante	3 minutes
Sécher à l'air (p.ex. pendant toute une nuit, ou à 50 °C dans l'armoire de séchage)	
Monter le cas échéant avec Aquatex® et une lamelle couvre-objets	

Pour stocker les préparations hématologiques pendant plusieurs mois, il est recommandé de les monter à l'aide d'un milieu de montage aqueux (p.ex. Aquatex®) et d'une lamelle couvre-objets. Sans montage, la coloration est stable environ 30 jours, et sous huile à immersion, pendant 3 jours seulement.

Pour l'examen microscopique de préparations colorées avec un grossissement >40x, il est recommandé d'utiliser de l'huile d'immersion.

Résultat

Les préparations colorées avec le Réactif de Schiff Intense apparaissent colorées plus intensément.

Toutes les structures contenant des polysaccharides, principalement du glucose, se colorent en rouge foncé.

Les populations de blastes qui permettent de caractériser au moins partiellement une granulation positive à PAS, caractéristique, à gros grains, sont classées généralement dans la série lymphatique.

Les blastes leucémiques de la série myéloïde sont diffus jusqu'à finement granulés, le cas échéant en plus positifs à PAS par segments.

Les myéloblastes normaux, les éosinophiles et les cellules des séries de cellules sanguines rouges non détruites par contre sont négatifs à PAS.

Les promyélocytes, les monocytes, les basophiles et toute la série de développement neutrophile montrent une coloration rouge diffuse qui apparaît en rouge foncé avec une maturité croissante.

Les érythroblastés des leucémies érythrocytaires et quelques anémies extrêmement hyper régénératives peuvent présenter une réaction particulière à PAS.

Remarques techniques

Le microscope utilisé doit respecter les exigences d'un laboratoire de diagnostics médicaux.

Dans les frottis de sang, il peut apparaître un précipité finement granulé peu important et qui n'a aucune influence sur les résultats diagnostiques.

Éliminer l'excédent d'huile pour immersions avant l'archivage.

Diagnostic

Les diagnostics doivent être exclusivement effectués par des personnes autorisées et formées.

Les nomenclatures en vigueur doivent être utilisées.

Des tests plus poussés seront choisis et réalisés selon des méthodes reconnues. Chaque étape doit être effectuée sous contrôle, afin d'exclure toute possibilité de résultat erroné.

Stockage

Stocker le kit de LEUCOGNOST® PAS - Détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes entre +15 °C et +25 °C.

Stabilité

Le kit de LEUCOGNOST® PAS - Détection de la réaction acide périodique Schiff dans les leucocytes peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée.

Après la première ouverture du flacon, conserver entre +15 °C et +25 °C et utiliser jusqu'à la date de péremption.

Tenir les flacons toujours bien fermés.

Les solutions préparées A et B sont incolore et stable pendant 3 heures.

Capacité

Le kit de coloration suffit pour 12 colorations avec jusqu'à 16 préparations. Les cuves de coloration de Hellendahl de 60 ml avec extension (correspond à un processus de coloration) sont conçues pour l'emploi simultané de 8 lames porte-objets et même de 16 si elles sont placées en quinconce.

Remarques sur l'utilisation

Réservé à une utilisation professionnelle.

Pour éviter les erreurs, l'application doit être effectuée par un personnel qualifié. Respecter les directives nationales relatives à la sécurité au travail et à l'assurance de la qualité.

Utiliser des microscopes équipés conformément au standard.

En cas de besoin, utiliser une centrifugeuse conforme à la norme de laboratoire et aux critères.

Protection contre les infections

Veiller impérativement à une protection efficace conformément aux directives des laboratoires.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur.

Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.products-for-microscopy.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement CE n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 102572	Réactif de Schiff Intense pour la détection d'aldéhydes et de mucosubstances dans la microscopie	1 l
Art. 104699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 108562	Aquatex® (produit de montage aqueux) pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 50 ml
Art. 109033	Réactif de Schiff pour la microscopie	500 ml, 2,5 l
Art. 109249	Hémalum en solution selon Mayer pour la microscopie	500 ml, 1 l, 2,5 l
Art. 112327	LEUCOGNOST® mélange de fixation Fixateur pour la cytochimie d'enzymes	500 ml

Classification des matières dangereuses

Art. 1.16302.0002

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité.

La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

Composants principaux des produits

Art. 1.16302.0002

Réactif 1	
Acide périodique	1,3 mmol
Réactif 2	
Potassium disulfite	1,48 mmol
Réactif 3	
Acide chlorhydrique	60 mmol



Consult instructions for use



Manufacturer



Catalog number



Batch code



Caution, consult accompanying documents



Use by YYYY-MM-DD



Temperature limitation

Status: 2016-11-15

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

