

KIT PER LA COLORAZIONE RAPIDA IN EMATOLOGIA (FAST PANOPTIC)

Principio

La tecnica di colorazione rapida Panoptic è una colorazione ematologica differenziale non vitale eseguita su cellule morte e basata sulla tradizionale tecnica Grünwald-Giemsa di maggio, la colorazione Romanowsky, con la modifica che si tratta di una procedura ad immersione.

Le colorazioni Romanowski sono definite dall'uso di soluzioni acquose di blu di metilene ed eosina. Le varianti del gruppo Romanowski si distinguono tra loro per il grado di ossidazione (policromia) corrispondente al blu di metilene (azzurro B). È stato originariamente progettato per incorporare la colorazione citoplasmatica (rosa) con quella nucleare (blu) e la fissazione in un unico passaggio per strisci di tessuto e film sottili.

Nel corso degli anni sono state apportate modifiche alla concentrazione di lavoro dei coloranti e alla durata della colorazione. Sono noti come coloranti Romanowsky, Jenner, May-Grünwald, Leishman, Wright e Giemsa. Sono tutti molto simili tra loro.

Fissatore panottico n. 1

Le colorazioni non vitali sono colorazioni ematologiche eseguite su cellule morte. Queste tecniche richiedono una fase preliminare, ovvero la fissazione delle cellule con metanolo, al fine di mantenere inalterate le strutture dei diversi componenti cellulari.

Eosina panottica n. 2

È un colorante xantenico alogenato con tre gruppi arilici (4 atomi di bromo per molecola) che gli conferiscono una carica elettrica negativa, rendendolo ideale come colorante citoplasmatico. Ha una particolare affinità per le strutture di base delle cellule, come l'emoglobina. Essendo un colorante anionico (acido), si lega alle strutture cellulari di base - granuli acidofili ed eosinofili.

Panoptic Azur B Nr. 3

È un colorante basico che fa parte di un gruppo di sostanze chiamate tiacine. Ha una particolare affinità per le strutture acide delle cellule, come gli acidi nucleici, i granuli dei neutrofili e le proteine acide, che si colorano di un rosso porpora più o meno intenso. Essendo un colorante cationico (basico), si lega a strutture acido-base e rimane in tonalità bluastra (DNA, ribosomi nei mitocondri e cellule con elevata attività biosintetica - molto RNA). I componenti cellulari che hanno un'affinità per entrambi i tipi di colorante rimarranno nei toni del viola (ad esempio, i neutrofili).

Applicazioni

Questo kit contiene tutti i reagenti necessari per la colorazione di strisci di sangue o di midollo in campioni biologici di origine umana.

La formulazione dei componenti del kit è stata studiata per consentire di eseguire la colorazione ematologica molto più rapidamente rispetto ai metodi di colorazione tradizionali.

Questo metodo panottico rapido è una modifica della colorazione di Romanowsky. Si differenzia dai metodi classici (May Grünwald Giemsa e Wright) in quanto, in questi due metodi, il colorante deve essere spalmato sull'estensione, a differenza del metodo panottico rapido, che è un metodo a immersione, cioè si immerge l'estensione nella soluzione colorante per un certo periodo di tempo. Questa procedura di immersione rende la colorazione molto più veloce.

Nella colorazione panottica si utilizzano campioni biologici di sangue o midollo osseo, solitamente preparati sotto forma di strisci.

Il primo passo consiste nel fissare le strutture cellulari in metanolo, immergendo il campione in questo fissativo più volte per un breve periodo. Ciò consente di mantenere inalterate le strutture dei vari componenti cellulari.

Il campione viene poi immerso in una seconda soluzione, l'eosina, con le stesse modalità. Infine, viene immerso in una terza soluzione, il blu, con le stesse modalità delle prime due. Dopo il lavaggio con una soluzione di pH

7,2, il preparato può essere osservato al microscopio ottico, rivelando le diverse cellule del sangue (globuli bianchi e rossi).

L'interpretazione è identica a quella della colorazione convenzionale (May Grünwald-Giemsa).

Materiale

La colorazione panottica utilizza campioni biologici di sangue o midollo osseo, generalmente preparati sotto forma di strisci.

Reagenti

Codice	Descrizione
254101	Fissazione per colorazione rapida (Panoptic n. 1) per diagnosi clinica (*)
253999	Eosina per la colorazione rapida (Panoptic n. 2) per la diagnosi clinica (*)
253998	Blu per la colorazione rapida (Panoptic n. 3) per la diagnosi clinica (*)
252164	Soluzione tampone pH 7,2 per la diagnosi clinica

Procedura

La procedura di colorazione rapida del Panopticon è la seguente:

1. Preparare uno striscio di sangue molto sottile su un vetrino pulito e sgrassarlo con alcol.
2. Lasciare asciugare all'aria (circa 2 ore).
3. Immergere il campione di striscio di sangue nel dispositivo di fissaggio (Panoptic n. 1) 5 volte per 1 secondo ogni volta.
4. Lasciare scolare.
5. Immergere il campione di striscio di sangue nell'eosina per la colorazione rapida (Panoptic n. 2) 5 volte per 1 secondo.
6. Lasciare scolare.
7. Immergere il campione di striscio di sangue in Blu per colorazione rapida (Panoptic n. 3) 5 volte per 1 secondo ogni volta.
8. Lasciare scolare.
9. Sciacquare lo striscio con tampone a pH 7,2.
10. Asciugare all'aria e osservare al microscopio.

Risultati

Eritrociti	rosa-grigio
Piastrine	Blu-viola

Tipo di leucocita	Nuclei	Citoplasma	Granulazioni
neutrofilo	Blu-violetto	-----	Viola
eosinofilo	Viola-blu	-----	Da rosso mattone a marrone violaceo
basofilo	Viola-blu	-----	Da viola scuro a nero
monocita	Blu-violetto	rosa-grigio	-----
linfocita	Viola-blu	blu	-----

L'intensità e la risoluzione della colorazione possono variare in funzione del tempo. Possono variare anche con ripetute immersioni nel colorante.

Tenere le cuvette del Panoptic No. 1 Quick Stain Fixer coperte, poiché l'evaporazione del prodotto potrebbe causare errori di colorazione.

Nota tecnica

Il microscopio utilizzato deve soddisfare i requisiti di un laboratorio di diagnostica clinica. Se si utilizza un coloratore automatico, è necessario seguire le istruzioni e il software del produttore.

Preparazione del campione

Tutti i campioni devono essere trattati secondo lo stato dell'arte. Tutti i campioni devono essere etichettati in modo inequivocabile.

Diagnostica

La diagnostica deve essere eseguita solo da personale autorizzato e qualificato. Ogni applicazione deve essere sottoposta a controlli adeguati per escludere risultati errati.

Immagazzinamento

La soluzione colorante deve essere conservata a temperatura ambiente.

Scadenza

Se conservato alla temperatura indicata e in un contenitore ben chiuso, il prodotto può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Note sull'uso

Per evitare errori, la colorazione deve essere eseguita da personale specializzato. Solo per uso professionale. È necessario rispettare le direttive nazionali sulla sicurezza sul lavoro e sulla garanzia di qualità.

Consigli sullo smaltimento dei rifiuti

Le soluzioni usate e scadute devono essere smaltite come rifiuti pericolosi e devono essere rispettate le norme locali sullo smaltimento dei rifiuti. Per ulteriori domande sullo smaltimento, inviare un'e-mail a info.es@itwreagents.com. All'interno dell'UE, i requisiti basati sulla Direttiva 67/548/CEE del Consiglio concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari e amministrative relative alla classificazione, all'imballaggio e all'etichettatura delle sostanze pericolose sono validi nella versione pertinente.

Classificazione delle sostanze pericolose

Osservare la classificazione delle sostanze pericolose riportata sull'etichetta e le informazioni contenute nella scheda di sicurezza.

Produttore

Panreac Química S.L.U.
an ITW Company
C/Garraf, 2 – Polígono Pla de la Bruguera
E-08211 Castellar del Vallès
(Barcelona) España
Tel. (+34) 937 489 400
Fax (+34) 937 489 401

(*) Certificato CE secondo IVDR 2017/746, per uso professionale.

