

Kit RAL StainBox BBM

COD. 360400-0000

Fissazione e colorazione differenziale delle strutture cellulari



IFU002A-RAL

Solo per uso professionale.

Leggere attentamente tutte le informazioni prima di utilizzare questo dispositivo.

Indice

Uso previsto.....	1
Principio	1
Descrizione del kit.....	2
Conservazione	2
Componenti attivi	2
Classificazione di pericolo e informazioni di sicurezza.....	3
Qualifica del personale	3
Attrezzature e reagenti specificamente richiesti ma non forniti.....	3
Procedura operativa.....	4
Risultati previsti.....	8
Prestazioni	9
Controllo di qualità dell'utente.....	9
Altri prodotti	9
Raccomandazioni, note e risoluzione dei problemi.....	9
Tabella dei simboli e delle abbreviazioni.....	11
Bibliografia.....	11
Tracciamento delle modifiche.....	11

Uso previsto

Kit RAL StainBox BBM è destinato all'uso combinato con lo strumento RAL Stainer per la fissazione e la colorazione differenziale di strutture cellulari prima dell'esame al microscopio.

Ove applicabile, RAL Diagnostics raccomanda di utilizzare i prodotti RAL Diagnostics correlati, e non garantisce il conseguimento dei risultati attesi ove venissero utilizzati in combinazione con prodotti di terzi.

Principio

La colorazione panottica BBM consente di eseguire la conta di cellule ematiche e del midollo osseo, utilizzando cinque reagenti in successione: R1, R2, R3, R4 e R5.

R1, formulato con alcool etilico, è un misto di coloranti neutri. Consente il fissaggio dello striscio e prepara la colorazione, specialmente di elementi idrosolubili come le granulazioni basofile.

Questi coloranti sono inefficaci in un ambiente alcolico e reagiscono selettivamente solo nel momento in cui vengono rilasciati nelle soluzioni R2 e R3. Il rilascio provoca la precipitazione di coloranti neutri, e ciò induce la colorazione di eritrociti, citoplasma di granulociti neutrofilo, oltre che di granulazioni eosinofile. R4 è una soluzione acquosa di colore blu che colora il citoplasma di monociti e linfociti. R4 facilita anche il processo di metacromasia perché colora i granuli azurofilo

in rosso. Infine, R5 rimuove l'eccesso di colorante e contribuisce alla differenziazione degli elementi cellulari grazie all'azione di agenti di risciacquo specificamente selezionati.

L'azione successiva di R1, R2, R3, R4 e R5 conferisce il colore viola (tipico effetto Romanowsky-Giemsa), particolarmente visibile nella cromatina, nelle piastrine, e nelle granulazioni neutrofile.

Descrizione del kit

R 1

Soluzione limpida blu scuro
COD. 313595-0250 1 X 230 mL

R 2

Soluzione limpida incolore
COD. 3135752A0250 1 X 230 mL

R 3

Soluzione limpida incolore
COD. 3135753A0250 1 X 230 mL

R 4

Soluzione limpida blu scuro
COD. 313565-0250 1 X 230 mL

R 5

Soluzione limpida incolore
COD. 313605-0250 4 X 230 mL

Per specifici lotti, fare riferimento al certificato di analisi del lotto, disponibile all'indirizzo my.ral-diagnostics.fr.

Conservazione

Temperatura di conservazione: 15-25 °C lontano dalla luce.

Durata di conservazione del contenuto del flacone prima dell'apertura: fare riferimento alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Durata di conservazione del contenuto del flacone dopo l'apertura: 4 settimane o dopo 300 vetrini

Una volta aperto il flacone, la durata di utilizzo del suo contenuto prevale sulla data di scadenza



Componenti attivi

R1

May-Grünwald: circa 0,1%

Azzurro di metilene | blu - CAS - 531-55-5: circa 0,05%

R2 e R3

Potassio fosfato monobasico - CAS 7778-77-0: circa 0,05%

Fosfato disodico anidro - CAS 7558-79-4: circa 0,09%

R4

Blu di metilene - CAS - 61-73-4: <0,25%

R5

Potassio fosfato monobasico - CAS 7778-77-0: circa 0,03%

Fosfato disodico anidro - CAS 7558-79-4: circa 0,03%

Classificazione di pericolo e informazioni di sicurezza

R 1

Pericolo: H225 - Liquido e vapori facilmente infiammabili.

P210 - Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.



R2 and R3

Attenzione: H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P280 - Indossare indumenti protettivi, Indossare guanti, Proteggere gli occhi.

P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.



CONT	5-cloro-2-metil-2H-isotiazolo-3-one / 2-metil-2H-isotiazolo-3-one
-------------	---

R 4

Etichettatura non applicabile

R 5

Attenzione: H226 - Liquido e vapori infiammabili. H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P210 - Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare. P261 - Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 - Indossare guanti, Indossare indumenti protettivi, Proteggere gli occhi. P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico. P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.



CONT	5-cloro-2-metil-2H-isotiazolo-3-one / 2-metil-2H-isotiazolo-3-one
-------------	---

Qualifica del personale

Campioni e prodotti devono essere manipolati da personale qualificato e autorizzato, munito di protezioni individuali o collettive conformemente alle direttive nazionali vigenti per i laboratori. Il personale deve anche conoscere la classificazione dei materiali pericolosi riportata in etichetta e la Scheda di sicurezza dati (disponibile all'indirizzo my.ral-diagnostics.fr).

I campioni devono essere trattati conformemente alle procedure di laboratorio disponibili e a quelle emesse dalle autorità nazionali.

La diagnosi deve essere eseguita da personale qualificato e autorizzato secondo le procedure in vigore nel laboratorio.

Attrezzature e reagenti specificamente richiesti ma non forniti

Vetrini da microscopio, etanolo assoluto e RAL StainBox COD. 402000,

Questa apparecchiatura può differire in base al protocollo. Fare riferimento al protocollo pertinente (vedere la sezione relativa alla procedura operativa) per assicurarsi di disporre di quanto occorre per l'esecuzione dei test.

L'etichetta RFID utilizzata è un chip di memoria senza contatto a breve raggio passivo (13,56 MHz).

Procedura operativa

L'apparecchiatura utilizzata per il trattamento dei campioni deve essere conforme alle istruzioni per l'uso del fornitore.

Preparazione del campione

Striscio di sangue manuale: Mescolare la provetta per lenta inversione e montare un dispositivo per lo striscio. Invertire la provetta, premere leggermente il dispositivo di deposizione su un vetrino e dispensare una piccola goccia di sangue (Fig. 1 - vetrino A, passaggio 1)

Utilizzando un altro vetrino inclinato a 45° (Fig. 1 - vetrino B, passaggio 1), distribuire il sangue per capillarità lungo il bordo minore (Fig. 1 - passaggi 2 e 3) esercitando un movimento di spinta (Fig. 1 - passaggio 4). Uno striscio di buona qualità non raggiunge l'estremità del vetrino e il suo spessore si riduce gradualmente verso l'estremità. Prima della fissazione o della colorazione, lasciare asciugare lo striscio all'aria.

N.B.: in assenza di un dispositivo per lo striscio, aprire la provetta e utilizzare una pipetta per prelevare e depositare una goccia di sangue.

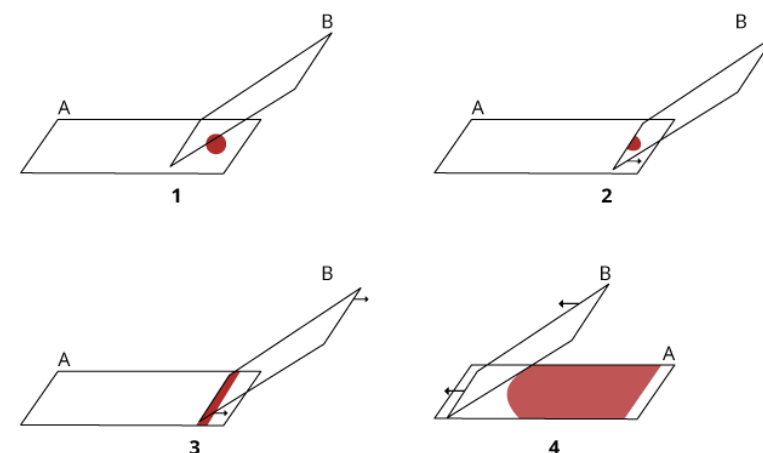



Figura 1. Rappresentazione schematica dell'esecuzione di uno striscio di sangue

A e B: vetrini 1– 4: passaggi da 1 a 4

Striscio di midollo osseo manuale con metodo per schiacciamento: depositare con una pipetta una piccola quantità di campione su un vetrino per microscopio. Tamponare l'eccesso di sangue mantenendo solo i grumi lucidi. Coprire il primo vetrino con un vetrino coprioggetto. Premere e assottigliare il campione strisciandolo e stirandolo fino all'estremità del vetrino. Perché sia di buona qualità, lo striscio non deve raggiungere il bordo estremo del vetrino. Smaltire il vetrino utilizzato per realizzare lo striscio. Prima della fissazione o della colorazione, lasciare asciugare lo striscio all'aria.

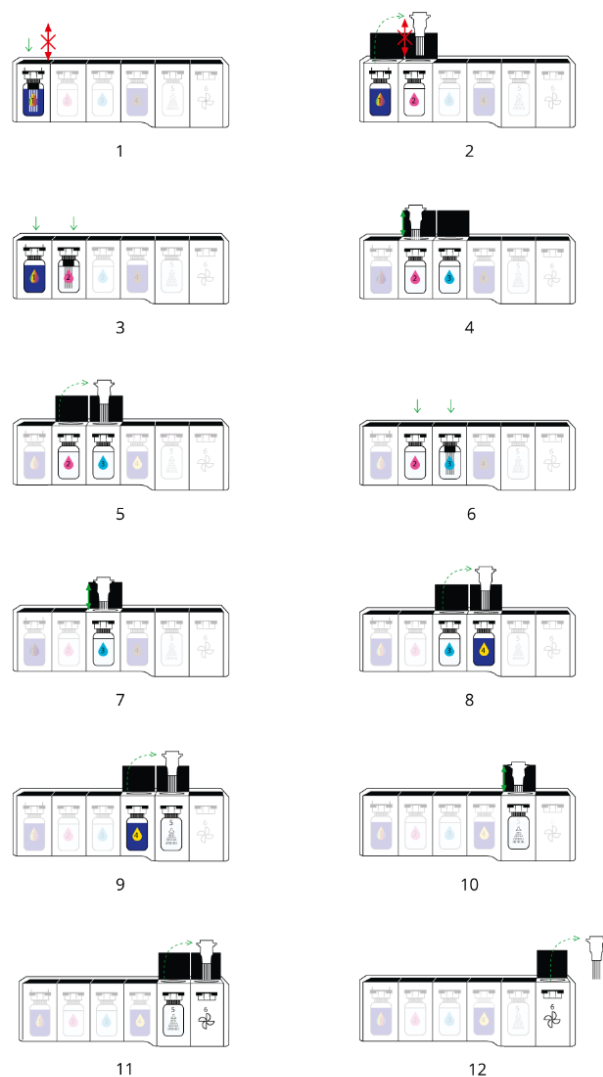
Preparazione di reagenti e strumentazione

Nessuna preparazione necessaria. Le soluzioni sono già pronte all'uso e i contenitori dei reagenti sono stati progettati per essere utilizzati per la colorazione dei vetrini.

Premere il pulsante nella schermata principale  di StainBox per aprire tutti i coperchi di StainBox. Rimuovere ring di sicurezza e tappi dai flaconi da 1 a 5 e avvitarli sui rispettivi supporti. Quindi, assicurarsi di collocare i flaconi nella loro posizione (Tabella 1). Supporto e posizioni dei flaconi). Chiudere tutti i coperchi manualmente e seguire le istruzioni sulla schermata.

Station	1	2	3	4	5
Bottle	R1	R2	R3	R4	R5
Support					
LED colour	Flickering LED	Pink LED	Blue LED	Yellow LED	White LED

Tabella 1. Supporto e posizioni dei flaconi



- 1- Posizionare il porta-vetrini nella prima stazione
- 2- Al termine del conto alla rovescia, i coperchi 1 e 2 si aprono. Trasferire il porta-vetrini nella stazione 2. Non agitare.
- 3- Chiudere i coperchi 1 e 2.
- 4- Al termine del conto alla rovescia, i coperchi 2 e 3 si aprono. Agitare i vetrini nella stazione 2 (secondo il protocollo in uso).
- 5- Trasferire il porta-vetrini nella stazione 3. Agitare i vetrini nella stazione 3 (secondo il protocollo in uso)
- 6- Chiudere i coperchi 2 e 3.
- 7- Al termine del conto alla rovescia, i coperchi 3 e 4 si aprono. Agitare i vetrini nella stazione 3 (secondo il protocollo in uso).
- 8- Trasferire il porta-vetrini nella stazione 4. Agitare i vetrini nella stazione 4 (secondo il protocollo in uso). e chiudere i coperchi 3 e 4. Al termine del conto alla rovescia, i coperchi 4 e 5 si aprono.
- 9- Trasferire il porta-vetrini nella stazione 5. chiudere il coperchio 4.
- 10- Lasciare aperto il coperchio e agitare secondo il protocollo in uso.
- 11- Al termine del conto alla rovescia, trasferire il porta-vetrini nella stazione 6 e chiudere i coperchi 5 e 6.
- 12- Al termine, rimuovere i vetrini colorati dalla stazione 6 e chiudere il coperchio. I vetrini sono di pronti per l'analisi.
- 13- .

Figura 2. Rappresentazione schematica dei passaggi di colorazione dello strumento RAL StainBox

Protocolli

I passaggi di colorazione dei protocolli indicati sotto comprendono una successione di immersioni dei vetrini in differenti bagnetti di colorazione.

Le impostazioni di colorazione consigliate da RAL Diagnostics sono preimpostate nel tag RFID.

Protocollo per campioni ematici - Metodo manuale in bagnetto di colorazione - Analisi automatizzata con sistema CellaVision® DC-1

Durata della procedura: 11 min. 30 s

Passaggi	Reagente	Tempo [mm:ss]	Indicazioni
Fissazione e pre-colorazione	R1	06:00	No
Colorazione	R2	01:00	Al termine del conto alla rovescia, agitare nel bagnetto da 5 a 10 volte*
Colorazione	R3	02:00	All'inizio e al termine e del conto alla rovescia, agitare nel bagnetto da 5 a 10 volte*
Colorazione	R4	00:30	
Risciacquo	R5	02:00	
Asciugatura	No	03:00	No

*Avviare l'agitazione all'apertura del coperchio.

Protocollo per campioni ematici - Metodo manuale in bagnetto di colorazione - Analisi manuale al microscopio

Durata della procedura: 09 min. 45 s

Passaggi	Reagente	Tempo [mm:ss]	Indicazioni
Fissazione e pre-colorazione	R1	06:00	No
Colorazione	R2	01:00	Agitare lentamente nel bagnetto alla fine del conto alla rovescia
Colorazione	R3	02:00	
Colorazione	R4	00:30	
Risciacquo	R5	00:15	Agitare continuamente nel bagnetto durante il conto alla rovescia
Asciugatura	No	03:00	No

Protocollo per campioni di midollo osseo - Metodo manuale in bagnetto di colorazione - Analisi manuale al microscopio

Durata della procedura: 19 min. 45 s

Passaggi	Reagente	Tempo [mm:ss]	Indicazioni
Fissazione e pre-colorazione	R1	15:00	No
Colorazione	R2	03:00	Al termine del conto alla rovescia, agitare nel bagnetto da 3 a 5 volte
Colorazione	R3	No	Non immergere nel flacone
Colorazione	R4	01:30	Al termine del conto alla rovescia, agitare nel bagnetto da 3 a 5 volte
Risciacquo	R5	00:15	Agitare continuamente nel bagnetto durante il conto alla rovescia
Asciugatura	No	03: 00	No

Nota: in caso di fenomeni di rifrazione/artefatto di acqua, prefissare i vetrini per 2 minuti in un bagno di etanolo assoluto prima della colorazione. Iniziare la colorazione direttamente dopo il passaggio di pre-fissazione, senza asciugare i vetrini.

Risultati previsti

Nuclei/cromatina: +/- viola scuro
Citoplasma dei granulociti: rosa violetto chiaro
Granuli eosinofili dei granulociti: arancione
Granuli basofili dei granulociti: blu scuro
Granuli neutrofilii dei granulociti: +/- viola scuro
Citoplasma dei linfociti con RNA: blu puro
Citoplasma dei linfociti senza RNA: azzurro
Granuli azzurrofilii dei linfociti: rosso
Citoplasma dei monociti: blu torbido
Eritrociti: beige rosato
Cromomero delle piastrine: rosso-violetto
Ialomero delle piastrine: bluastro
Nucleo di parassiti ematici: rosso
Citoplasma di parassiti ematici: blu

Se i risultati osservati differiscono da quelli attesi, contattare l'assistenza tecnica di RAL Diagnostics attraverso il fornitore abituale.

Prestazioni

Le prestazioni dei reagenti inclusi in kit RAL StainBox BBM sono state valutate in un laboratorio ospedaliero su 300 campioni di analisi clinica (strisci di sangue di midollo osseo).

La sensibilità dei reagenti inclusi in kit RAL StainBox BBM è stata valutata rispetto alla tecnica di riferimento utilizzata di routine dal laboratorio: MGG in bagnetto. Tutti i test sono stati effettuati in contemporanea nelle stesse condizioni.

I risultati ottenuti in questo studio dimostrano che l'efficienza di kit RAL StainBox BBM è pari a quella del metodo MGG di routine.

Per garantire le prestazioni del prodotto, utilizzare apparecchiature di laboratorio asciutte e pulite.

Il laboratorio è tenuto a notificare al produttore e alle autorità competenti qualsiasi incidente grave relativo all'uso dei dispositivi medici.

Controllo di qualità dell'utente

Gli utenti sono responsabili della determinazione delle procedure di controllo di qualità più adatte e del rispetto delle norme di laboratorio applicabili.

In occasione del rinnovo dei reagenti e/o del primo ciclo di colorazione della giornata, RAL Diagnostics raccomanda di colorare uno striscio fresco, eseguito con sangue a conta WBC normale e senza anomalie patologiche note. Verificare i vetrini colorati per il controllo di qualità, assicurandosi che siano appropriati per il test a cui sono destinati (colorati correttamente e senza precipitati).

Le procedure di qualità devono essere condotte esclusivamente da personale qualificato.

Altri prodotti

Per maggiori informazioni, contattare il fornitore abituale.

Raccomandazioni, note e risoluzione dei problemi

Aspetto dei prodotti

Se l'aspetto dei prodotti è difforme da quello sopra indicato, non utilizzarli e contattare il servizio tecnico RAL Diagnostics attraverso il fornitore abituale per ricevere assistenza.

Note sulle procedure

Per evitare la degradazione dei prodotti, attenersi alle raccomandazioni di conservazione e manipolazione specificate nel presente manuale.

Si consiglia vivamente di cambiare il flacone 5 (R5) ogni settimana od ogni 75 vetrini. A ogni sostituzione del kit, assicurarsi di rimuovere gli anelli e i tappi inviolabili prima di avvitare i dispositivi di colorazione.

In caso di fenomeni di rifrazione/artefatto di acqua, prefissare i vetrini per 2 minuti in un bagno di etanolo assoluto prima della colorazione.

Stabilità dei prodotti

Ogni prodotto RAL Diagnostics può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sulla sua confezione originale, sempre che sia ancora ermeticamente sigillata.

Stabilità della colorazione

Qualità e riproducibilità della colorazione dipendono dal corretto utilizzo dei prodotti.

Le colorazioni condotte nel rispetto di queste raccomandazioni rimarranno stabili per diversi giorni. Se è necessario conservare gli strisci colorati per diversi mesi o anni, RAL Diagnostics consiglia di montare coprivetrini sui vetrini con un liquido di conservazione adatto, e di conservare tutto in scatole a prova di luce e polvere.

Istruzioni per la pulizia e lo smaltimento dei rifiuti

Ogni campione biologico, rifiuto o materiale di consumo utilizzato deve essere considerato come potenzialmente pericoloso.




Per evitare ogni rischio, attenersi alle seguenti istruzioni: smaltire campioni, effluenti, e materiali di consumo in conformità agli standard di laboratorio e a normative e regolamenti nazionali e locali applicabili.

I rifiuti chimici e biologici devono essere raccolti e trattati da aziende specializzate e registrate.

Tabella dei simboli e delle abbreviazioni

A seconda del prodotto, sul dispositivo o sull'imballaggio possono essere riportati i seguenti simboli.

Pittogrammi GHS	Interpretazione
	Esplosivo
	Infiammabile
	Ossidante
	Gaz compresso
	Corrosivo
	Tossico
	Nossivo
	Pericolo per la salute
	Pericolo per l'ambiente
	Nessuna etichettatura applicabile

Symbols	Interpretazione
	Codice lotto
	Numero di serie
	Codice del catalogo
	Data di fabbricazione
	Usare fino a
	Identificatore univoco del dispositivo
	Fabbricante
	Importatore
	Entità che distribuisce il dispositivo medico nella regione interessata
	Dispositivo a marchio CE
	Dispositivo medico diagnostico in vitro
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea
	Rappresentante autorizzato in Svizzera
	Conforme alle linee guida del Regno Unito
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Tenere lontano dalla luce
	Limite di temperatura: 15-25°C
	Limite di temperatura: 15-30°C
	Conservare in luogo asciutto
	Scatola: maneggiamento verso l'alto
	Fragile
	Sterilizzato tramite irradiazione
	Sistema a singola barriera sterile senza imballaggio protettivo esterno
	Barriera sterile e sterilizzata con radiazioni
	Non riutilizzare
	Non risterilizzare
	Contenuto sufficiente per n tests
	Materiale pericoloso contenuto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Uso
	Dopo l'apertura, utilizzare entro XX mesi
	Il prodotto non deve essere utilizzato insieme a una macchina di colorazione automatica
	Indica un dispositivo medico che contiene sostanze potenzialmente cancerogene, mutagene o tossiche per la riproduzione (CMR) o sostanze classificate come interferenti endocrini

Bibliografia

BENATTAR L., FLANDRIN G., *Morphometry and Quality Control for a May-Grünwald Giemsa stained preparation. A 40 centers cooperative study. Leuk. & Lymphoma* 1999, 33, 587-591.

BENATTAR L., FLANDRIN G., *Etapas de l'automatisation de l'étude microscopique du sang. Rencontre Médecins biologistes, 2002. ATEB, Journée Technique Parisienne*, mars 1977.

DUHAMEL G., DUHAMEL E., *Cytologie hématologique, Les cellules pathologiques I et II, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Biologiste et Praticien et Réactifs RAL*, 1984 e 1989.

Ecole Nationale de Chimie, *Coloration de Pappenheim, Présentation théorique des mécanismes cytochimiques des colorants neutres avec applications techniques détaillées, Journée du technicien biologiste*, marzo 1980, pagg. 1-9.

GENTILHOMME O., TREILLE-RITOUET D., BRYON P-A., *Cytologie hématologique, Les cellules normales, Coloration au May-Grünwald Giemsa RAL, Réactifs R.A.L.*, 1989.

SOCIETE FRANCAISE D'HEMATOLOGIE (SFH), *Guides des bonnes pratiques des ponctions médullaires*, Juin 2003, VI.2

THEML H., *ATLAS de poche d'Hématologie, Médecine-Sciences Flammarion*, p. 19-25, 2000

Tracciamento delle modifiche

Data	Versione	Modifiche
05/2022	IFU002A-RAL	Conformità a IVDR (EU) 2017/746



RAL Diagnostics - Site Montesquieu - 33650 Martillac - Francia

T+33(0)5 57 96 04 04 - F +33 (0)5 57 96 04 55 - ral-diagnostics.fr / cellavision.com