

LEUKOGNOST ALP

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod **CE**

Komplet za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: LKG-ALP (za najmanje 100 testiranja)

Uvod

Komplet LeukoGnost ALP sadrži reagense za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija na preparatima pune krvi ili koštane srži. Metoda se temelji na sposobnosti alkalne fosfataze leukocita da hidrolizira fosfatne estere u alkalnoj otopini. U toj reakciji nastaje slobodni naftol koji u reakciji s diazo-solima stvara netopivi smeđi precipitat na mjestu reakcije.

Komplet je dizajniran za pojedinačno testiranje vodoravno postavljenih preparata i sadrži reagense za najmanje 100 testova detekcije aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima. Reagensi se nanose kapanjem dok se ne prekrije cijeli preparat (1-2 mL).

Opis proizvoda

- **LeukoGnost ALP** - Komplet za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima

Komplet sadrži:	LKG-ALP (za 100 testiranja)	Temperatura skladištenja:
Reagens 1 (Natrijev nitrit, otopina)	NAN-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 2 (Variamin Blue B, otopina)	VAR-OT-3 (3 mL)	2-8°C
Reagens 3 (ALP pufer)	TRIS-OT-100 (2x100 mL)	2-8°C
Reagens 4 (ALP supstrat)	NAF-OT-10 (2x10 mL)	2-8°C

Ostali reagensi potrebni u metodi bojenja

- **LeukoGnost Fiksativ (LKF-500)** – Fiksativ za primjenu u citokemijskoj dijagnostici leukemija
 - **LeukoGnost HEM (LKH-OT-500)** – Hematoksilin za primjenu u citokemijskoj dijagnostici leukemija
- ili
- **LeukoGnost PLUS (LKG-PLUS)** – Set dodatnih reagensa za LeukoGnost komplete

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja

- Sredstvo na vodenoj bazi za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakalaca poput BioGnostovog **BioMount Aqua (BMA-30)**
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput **Imerzijskog ulja (IU-30)** ili **Imerzijskog ulja tipa A (IUA-30)**

Priprema otopine za bojenje

Pripremiti otopinu za bojenje na sljedeći način:

- korak 1: u čistoj epruveti pomiješati Reagens 1 i Reagens 2. Ostaviti da stoji 2 min.
- korak 2: u mješavinu Reagens 1 i 2 dodati Reagens 3.
- korak 3: u pripremljenu mješavinu iz koraka 2 dodati Reagens 4.

Volumen reagensa prilagoditi prema potrebi:

KORAK	REAGENS	ZA 1 PREPARAT	ZA 12 PREPARATA	ZA 24 PREPARATA
korak 1	Reagens 1	50 µL (1 kap)	600 µL (12 kapi)	1,2 mL (24 kapi)
	Reagens 2	25 µL (1 kap)	300 µL (12 kapi)	600 µL (24 kapi)
korak 2	Reagens 3	2 mL	24 mL	48 mL
korak 3	Reagens 4	200 µL (4 kapi)	2,4 mL	4,8 mL

Priprema preparata za bojenje

- Razmaz periferne krvi ili koštane srži pripremiti da bude tanak i suh (sušiti preparat min. 30 minuta). Ovakvi preparati ne smiju biti stariji od tri dana.
- Nije preporučeno koristiti antikoagulanse jer može doći do inhibicije enzimske reakcije.
- Preparat fiksirati na sljedeći način:

1.	Fiksirati preparat nanošenjem LeukoGnost Fiksativa (1-2 mL) na preparat	1-3 minute
2.	Preparat isprati u destiliranoj vodi	10 sekundi
3.	Osušiti preparat na zraku	

- Ovakvo pripremljeni i fiksirani preparati mogu se pohraniti na temperaturi 2-8 °C i koristiti do najviše tri dana.

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Otopinu za bojenje pripremiti svježu prije svakog bojenja. Pripremljenu otopinu moguće je koristiti unutar 45 minuta.

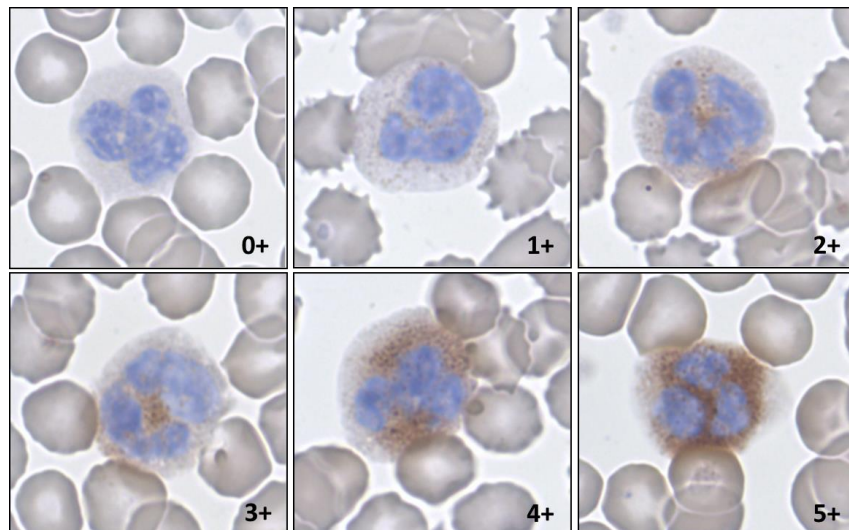
Postupak bojenja uzorka

1.	Nanijeti otopinu za bojenje (1-2 mL) na preparat	10 minuta
2.	Snažno isprati preparat u destiliranoj vodi	10 sekundi
3.	Osušiti preparat	
4.	Obojiti preparat LeukoGnost HEM reagensom	2 minute
5.	Isprati preparat pod tekućom vodovodnom vodom	2 minute
6.	Osušiti preparat na zraku	

Nakon sušenja preparata, preporuka je montirati pokrovno stakalce sredstvom BioMount Aqua kako bi se očuvala boja i kvaliteta preparata.

Rezultat

Stanice u završnoj fazi granulopoeze – smeđe granularno obojenje citoplazme.



Slika 1. Prikaz razmaza periferne krvi obojenih kompleksom LeukoGnost ALP. Prikazani su specifično obojeni neutrofili. Povećanje 1000x.

Ocjena gradacije obojenja:

0+: nema obojenja

1+: sporadične granule, vrlo slabo obojenje

2+: veći broj granula koje daju slabo obojenje

3+: veći broj granula koje daju srednje jako obojenje

4+: veliki broj intenzivno obojenih granula koje daju jako obojenje

5+: izrazito velik broj granula koje daju gotovo

homogeno obojenje

Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi suvremenom tehnologijom te ih jasno obilježiti. Obavezno slijediti upute proizvođača za rukovanje. Kako bi se izbjegle pogreške, postupak bojanja i postavljanje dijagnoze mogu provoditi samo ovlaštene i stručno osposobljene osobe. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija.

Zaštita na radu i zaštita okoliša

Proizvodom rukovati u skladu sa smjernicama zaštite na radu i zaštite okoliša. Korištene otopine i otopine kojima je istekao rok trajanja moraju biti zbrinute kao poseban otpad u skladu s nacionalnim smjernicama. Kemikalije korištene u ovom postupku mogu predstavljati opasnost za ljudsko zdravlje. Ispitivani uzorci tkiva potencijalno su infektivni te je nužno poduzeti potrebne mjere zaštite ljudskog zdravlja u skladu sa smjernicama dobre laboratorijske prakse. Obavezno pročitati i postupati u skladu sa znakovima obavijesti i upozorenja otisnutima na etiketi proizvoda i u BioGnostovom Sigurnosno-tehničkom listu koji je dostupan na zahtjev.

Skladištenje, stabilnost i rok valjanosti

Reagense kompleta LeukoGnost ALP čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +2 do +8 °C. Ne zamrzavati ih i ne izlagati ih direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Carson, F.L. et Hladik, C. (2009): Histology, 3 ed., American Society for Clinical Pathology Press, Hong Kong.
2. Lam KW, Li CY, Yam LT. Simultaneous demonstration of nonspecific esterase and chloroacetate esterase in human blood cells. Stain Technol. 1985;60:169-72.
3. Shibata A, Bennett JM, Castoldi GL, Catovsky D, Flandrin G, Jaffe ES, Katayama I, Nanba K, Schmalzl F, Yam LT, et al. Recommended methods for cytological procedures in haematology. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). Clin Lab Haematol. 1985;7:55-74.

LKG-ALP, V7, 18.08.2022., SB/IŠP

	Europska sukladnost		Temperaturni raspon čuvanja		Broj testova u pakovanju		Kataloški broj
	Pročitati priloženu uputu		Čuvati od topline i sunčevog svjetla		Vrijedi do		Broj serije
	Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu		Čuvati na suhom		Opazuj lomljivo		Proizvođač

BioGnost d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
Hrvatska
www.biognost.com



BIOGNOST®