

LEUKOGNOST PAS

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet za detekciju reakcije perjordne kiseline i Schiff-ovog reagensa u leukocitima UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Komplet LeukoGnost PAS sadrži reagense za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija na preparatima pune krvi ili koštane srži. Princip ove metode temelji se na reakciji oksidacije unutarstaničnih glikogena i neutralnih mukopolisaharida u prisutnosti perjordne kiseline i Schiffovog reagensa. Molekule s glikolnim grupama pod utjecajem perjordne kiseline stvaraju aldehide na koje djeluje Schiffov reagens i boji ih u intenzivnu magenta boju. Komplet je dizajniran za pojedinačno testiranje vodoravno postavljenih preparata i sadrži reagense za najmanje 100 testova detekcije reakcije perjordne kiseline i Schiff-ovog reagensa u leukocitima. Reagensi se nanose kapanjem dok se ne prekrije cijeli preparat (1-2 mL).

Opis proizvoda

- **LEUKOGNOST PAS** – komplet za detekciju reakcije perjordne kiseline i Schiff-ovog reagensa u leukocitima

Komplet sadrži:	LKG-PAS (za 100 testiranja)	Temperatura skladištenja
Reagens 1 (Perjordna kiselina, LeukoGnost)	PKL-OT-100 (2x100 mL)	15-25 °C
Reagens 2 (Natrijev metabisulfit, LeukoGnost)	NMLKG-OT-10 (2x10 mL)	15-25 °C
Reagens 3 (HCL reagens, LeukoGnost)	HCLLP-OT-10 (2x10 mL)	15-25 °C
Reagens 4 (BioSchiff Forte reagens)	BSF-OT-100 (2x100 mL)	15-25 °C (nakon prvog otvaranja, skladištiti na temperaturi od 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
- **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 stalaca poput BioGnostovog **BioMount Aqua (BMA-30)**
- BioGnostova sredstva za imerziju poput **Imerzijskog ulja (IU-30)** ili **Imerzijskog ulja tipa A (IUA-30)**

Priprema sulfidne otopine:

- korak 1: u čistoj epruveti pomiješati Reagens 2 i Reagens 3
 - korak 2: u mješavinu Reagens 2 i Reagens 3 dodati destiliranu vodu
- Napomena: sulfidnu otopinu napraviti netom prije početka izvođenja testa. Volumen pripremljene sulfidne otopine prilagoditi broju preparata.

Volumen reagensa prilagoditi prema potrebi:

KORAK	REAGENS	ZA 1 PREPARAT	ZA 12 PREPARATA	ZA 24 PREPARATA
korak 1	Reagens 2	200 µL (4 kapi)	2,4 mL	4,8 mL
	Reagens 3	200 µL (4 kapi)	2,4 mL	4,8 mL
korak 2	destilirana voda	4 mL	48 mL	96 mL

Priprema preparata za bojenje

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

1.	Fiksirati preparat nanošenjem LeukoGnost Fiksativa (1-2 mL) na preparat	1-3 minute
2.	Isprati preparat pod tekućom vodovodnom vodom	10 sekundi
3.	Osušiti preparat na zraku	

- Ovako 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.

Obavezno dobro zatvoriti bočicu u kojoj se nalazi BioSchiff Forte kako ne bi došlo do isparavanja sumporovog dioksida i kako bi se očuvala kvaliteta reagensa. BioSchiff Forte je bezbojna ili blago narančasta otopina. Ako promijeni boju u ružičastu, nije prikladan za korištenje.

Postupak bojenja uzorka

1.	Nanijeti Reagens 1 (1-2 mL) na preparat	10 minuta
2.	Isprati preparat u tekućoj vodovodnoj vodi	10 sekundi
3.	Nanijeti sulfidnu otopinu (1-2 mL) na preparat	1 minuta
4.	Nanijeti Reagens 4 (1-2 mL) na preparat	15 minuta
5.	Isprati preparat u tekućoj vodovodnoj vodi	10 sekundi
6.	Nanijeti sulfidnu otopinu (1-2 mL) na preparat	3 minute
7.	Isprati preparat u tekućoj vodovodnoj vodi	3 minute
8.	Obojati preparat LeukoGnost HEM reagensom	3 minute
9.	Isprati preparat pod tekućom vodovodnom vodom	3 minute
10.	Osušiti preparat na zraku	

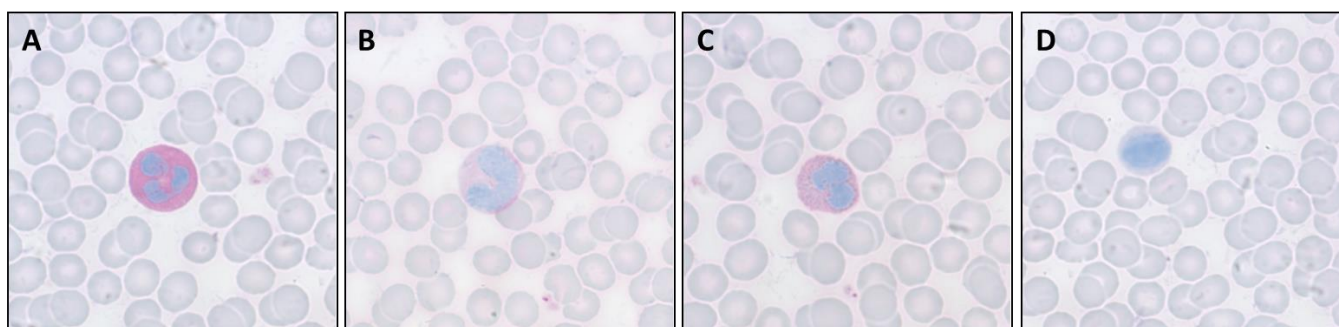
Nakon sušenja preparata, preporuka je montirati pokrovno stakalce sredstvom BioMount Aqua i pohraniti u mraku kako bi se trajno očuvala boja i kvaliteta preparata.

Rezultat

Promijelociti, monociti, bazofili, neutrofilni, megakariociti, trombociti, 10-40 % limfocita – difuzno do fino zrnato magenta obojenje citoplazme.

Limfoblasti, eritroblasti – magenta obojenje citoplazme u obliku velikih granula/blokova.

Normalni mijeloblasti, eozinofili i eritrociti – bez specifičnog obojenja.



Slika 1. Prikaz razmaza periferne krvi obojenih kompletom LeukoGnost PAS. Prikazani su specifično obojeni neutrofil (A), monocit (B) i bazofil (C), te neobojeni limfocit (D). Povećanje 1000x.

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 bojenja 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.

Skладиštenje, stabilnost i rok valjanosti

Reagense kompleta LeukoGnost PAS čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Kako bi produžili valjanost BioSchiff Forte reagensa, preporučamo da ga nakon prve upotrebe čuvate na temperaturi od 2-8°C. Ne zamrzavati reagense i ne izlagati ih direktno sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Culling, C.F.A.(1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
2. Davey, F.R. et Nelson, D.A.(1977): Periodic Acid Schiff (PAS) Stain. IN Hematology, 2nd ed., W. J. Williams, E. Buettler, A. J. Erslev, R.W. Rundles, McGraw-Hill, New York, str. 1630-1632.
3. Hotchkiss, R.D.(1948): A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations, *Arch. Biochem.* 16, str. 131.
4. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B.(1980): Theory an Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

LKG-PAS, V11, 18.08.2022., SB/ISP

	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		Oprez lomljivo		Proizvođač

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

BIOGNOST®