

LEUKOGNOST SPENSE

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet za istovremenu detekciju aktivnosti specifične i nespecifične esteraze u leukocitima

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: LKG-SPENSE (za najmanje 50 testiranja)

Uvod

Ovaj komplet sadrži reagense za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija na preparatima pune krvi ili koštane srži.

Metoda se temelji na sposobnosti jednog tipa stanične esteraze da hidrolizira naftol AS-D kloroacetat i sposobnosti drugog tipa stanične esteraze da hidrolizira 1-naftil acetat. U oba tipa reakcije nastaju slobodni naftoli koji s različitim diazo solima stvaraju netopive precipitate na mjestu reakcije.

Komplet je dizajniran za pojedinačno testiranje vodoravno postavljenih preparata i sadrži reagense za najmanje 50 testova detekcije aktivnosti specifične i nespecifične esteraze u leukocitima. Reagensi se nanose kapanjem dok se ne prekrije cijeli preparat (1-2 mL).

Opis proizvoda

- **LEUKOGNOST SPENSE** - komplet za istovremenu detekciju specifične i nespecifične esteraze u leukocitima

Komplet sadrži:	LKG-SPENSE (za 50 testiranja)	Temperatura skladištenja:
Reagens 1 (Natrijev nitrit, otopina)	NAN-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 2 (Fast Blue RR/Fast Garnet GBC)	FBBG-OT-2 (2 mL)	2-8°C
Reagens 3 (SPE pufer)	FOP-OT-100 (100 mL)	2-8°C
Reagens 4 (SPE supstrat)	NASD-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 5 (Fast Garnet GBC, otopina)	FGGBC-OT-2 (2 mL)	2-8°C
Reagens 6 (NSE pufer)	NSEP-OT-100 (100 mL)	2-8°C
Reagens 7 (NSE supstrat)	NAFA-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 8 (NSE inhibitor)	NAFO-OT-10 (2x10 mL)	2-8°C
Reagens 9 (Methyl Green, otopina)	MGR-OT-100 (100 mL)	2-8°C

Ostali reagensi potrebni u metodi bojenja

- **LeukoGnost Fiksativ (LKF-500)** – Fiksativ za primjenu u citokemijskoj dijagnostici leukemija

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 imerziju poput **Imerzijskog ulja (IU-30)** ili **Imerzijskog ulja tipa A (IUA-30)**

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.

Otopine za bojenje pripremiti svježe prije svakog bojenja (postupak pripreme otopina opisan je ispod tablice postupka bojenja). Pripremljene otopine moguće je koristiti unutar 30 minuta.

Postupak bojenja uzorka

1.	Nanijeti otopinu za bojenje A (1-2 mL) na preparat	30 minuta
2.	Snažno isprati u destiliranoj vodi	10 sekundi
3.	Nanijeti otopinu za bojenje B (s i/ili bez inhibitora esteraze) (1-2 mL) na preparat	90 minuta
4.	Snažno isprati u destiliranoj vodi	10 sekundi
5.	Obojiti preparat s Methyl Green, otopinom	5 minuta
6.	Kratko isprati preparat vodom	
7.	Osušiti preparat na zraku	

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

PRIPREMA OTOPINA ZA BOJENJE

1. Pripremiti otopinu za bojenje A na sljedeći način:

- korak 1: u čistoj epruveti pomiješati Reagens 1 i Reagens 2. Ostaviti da stoji 2 min.
- korak 2: u mješavinu Reagensa 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	100 µL (4 kapi)	1,2 mL	2,4 mL

2. Pripremiti otopinu za bojenje B na sljedeći način:

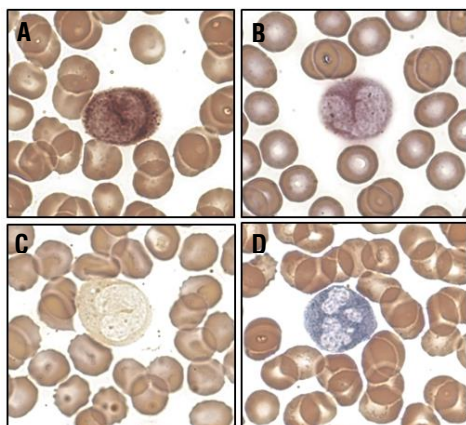
- korak 1: u čistoj epruveti pomiješati Reagens 1 i Reagens 5. Ostaviti da stoji 2 min.
- korak 2: u mješavinu Reagens 1 i 5 dodati Reagens 6.
- korak 3: u pripremljenu mješavinu iz koraka 2 dodati Reagens 7.
- korak 4 (opcija s inhibicijom nespecifične esteraze): u mješavinu iz koraka 3 dodati Reagens 8.

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 5	25 µL (1 kap)	300 µL (12 kapi)	600 µL (24 kapi)
korak 2	Reagens 6	2 mL	24 mL	48 mL
korak 3	Reagens 7	100 µL (4 kapi)	1,2 mL	2,4 mL
korak 4 (opcionalno: kod inhibicije)	Reagens 8	400 µL (8 kapi)	4,8 mL	9,6 mL

Rezultat

Neutrofili, promijelociti i stanice mijeloblastične leukemije – plavo do plavoljubičasto obojenje citoplazme, slabo zeleno obojene jezgre.
Monociti – smeđe do smeđecrveno obojenje citoplazme, slabo zeleno obojene jezgre. Kod korištenja otopine za bojenje B koja uključuje inhibitor nespecifične esteraze ne dolazi do specifičnog obojenja.



Slika 1. Prikaz razmaza periferne krvi obojenih kompletom LeukoGnost SPENSE. Prikazani su specifično obojeni monociti (A-smeđe obojenje, B-crveno obojenje) i neutrofil (D) te neobojeni monocit s inhibitorom nespecifične esteraze (C). 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 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 SPENSE 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, Schmalz 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.
4. Yam LT, Li CY, Crosby WH. Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. Am J Clin Pathol. 1971;55:283-90.

LKG-SPENSE, V7, 18.08.2022., SB/ŠP

	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®