

LEUKOGNOST PERLS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

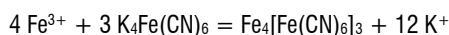
LeukoGnost PERLS (Prussian Blue) komplet za detekciju slobodnih željezovih feri (Fe³⁺) iona u stanicama

UPUTA ZA RUKOVANJE

REF Kataloški broj: LKG-PERLS (za 100 testiranja)

Uvod

LeukoGnost PERLS komplet koristi se za detekciju slobodnih željezovih iona (Fe³⁺) (koji nisu vezani za hemoglobin) u stanicama, posebno u normoblastima (sideroblasti), makrofagima (hemosiderin) i ostalim stanicama koje sadrže slobodno željezo. Metoda se temelji na reakciji pruskog/berlinskog modrila, a koristi se za bojenje krvnih razmaza i razmaza koštane srži, kao i histoloških preparata koštane srži. Prussian blue metoda nazvana je po njemačkom patologu Maxu Perlsu koji je prvi opisao ovu tehniku bojenja. U toj reakciji slobodni željezovi ioni u stanicama reagiraju s kalijevim heksacijanoferatom u klorovodičnoj otopini te nastaje plavi netopivi talog (kompleks soli).



Kako bi se postigla što bolja vizualna diferencijacija željezovih depozita u citoplazmi, za kontrastno bojenje koristi se Nuclear Fast Red reagens koji jezgre boji crveno. LeukoGnost PERLS komplet koristi se u dijagnozi mijelodisplastičnog sindroma koji obuhvaća refraktornu anemiju i kroničnu mijelomonocitnu leukemiju. Kod anemija 15% crvenih krvnih stanica u koštanoj srži čine sideroblasti koji imaju barem 5 granula hemosiderina koje se bojaju plavo berlinskim modrilom. Granule željeza mogu biti difuzno rasprostranjene u citoplazmi ili perinuklearno (prstenasti sideroblasti).

Opis proizvoda

- LEUKOGNOST PERLS – komplet od tri reagensa za detekciju slobodnih željezovih iona u stanicama

Komplet sadrži:	LKG-PERLS (za 100 testiranja)	Temperatura skladištenja:
Reagens 1 (Kalijev heksacijanoferat, otopina)	100 mL (KHC-OT-100)	15-25 °C
Reagens 2 (HCL reagens, LeukoGnost Perls)	100 mL (HCLL-OT-100)	15-25 °C
Reagens 3 (Nuclear Fast Red reagens)	2 x 100 mL (KR-OT-100)	15-25 °C

Ostali preparati i reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja:

- Metilni alkohol za fiksaciju preparata poput **Histanola M**
- Sredstvo na vodenoj bazi za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakalaca poput BioGnostovog **BioMount Aqua (BMA-30)** medija
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput **Imerzijskog ulja (IU-30)** ili **Imerzijskog ulja tipa A (IUA-30)**
- Predmetna stakla visoke kvalitete za primjenu u histopatologiji i citologiji poput **VitroGnost SUPER GRADE** ili **VitroGnost COLOR** ili neka od tridesetak vrsta BioGnostovih VitroGnost predmetnih stakala
- Sredstvo za fiksaciju poput BioGnostovih neutralno puferiranih otopina formaldehida: Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%
- Sredstvo za dehidraciju/rehidraciju poput BioGnostovih alkoholnih otopina: Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100
- Sredstvo za prosvjetljavanje poput BioClear ksilena ili supstituta poput BioClear New sredstva na bazi alifatskih ugljikovodika
- Sredstvo za infiltraciju i uklapanje poput BioGnostovih granuliranih parafina BioWax Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro

Priprema otopine za bojenje

- u čistoj epruveti pomiješati Reagens 1 (Kalijev heksacijanoferat, otopinu) i Reagens 2 (HCL reagens, LeukoGnost Perls) u omjeru 1:1. **Otopinu za bojenje pripremiti svježu prije svakog bojenja.**

Volumen reagensa prilagoditi prema potrebi:

REAGENS	ZA 1 PREPARAT	ZA 100 PREPARATA
Reagens 1 (Kalijev heksacijanoferat, otopina)	1 mL	100 mL
Reagens 2 (HCL reagens, LeukoGnost Perls)	1 mL	100 mL

NAPOMENA

Nanijeti reagens tako da potpuno prekrije preparat.

Priprema preparata za bojenje

- Preparat pune krvi ili koštane srži pripremiti da bude tanak i suh (sušiti preparat min. 30 minuta). Ovakvi preparati ne smiju biti stariji od tri dana.
- Preparat fiksirati na sljedeći način:

1.	Osušeni preparat fiksirati u metanolu (Histanol M)	3 minute
2.	Osušiti preparat na zraku	

A) Postupak bojenja krvnih razmaza i razmaza koštane srži

1.	Nanijeti otopinu za bojenje na preparat, 2 mL	20 minuta
2.	Pažljivo isprati u destiliranoj vodi	
3.	Obojiti preparat Reagensom 3 (Nuclear Fast Red reagens), 2 mL	5 minuta
4.	Isprati u destiliranoj vodi	
5.	Osušiti preparat na zraku	

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

Priprema histoloških preparata za bojanje

- Uzorak fiksirati (Formaldehid NB 4%, Formaldehid NB 10%), isprati vodom i dehidrirati kroz seriju uzlaznih alkoholnih otopina (Histanol 70, Histanol 80, Histanol 95 i Histanol 100).
- Prosvijetliti uzorak intermedijem; ksilenom (BioClear) ili supstitutom ksilena (BioClear New).
- Infiltrirati i uklopiti uzorak u parafin (BioWax Plus, BioWax 56/58, BioWax Blue, BioWax Micro).
- Parafinski blok narezati na 4-6 mikrona tanke rezove i montirati na VitroGnost predmetno staklo.

B) Postupak bojenja histoloških preparata

1.	Deparafinacija u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	3 izmjene u trajanju od 2 minuta
2.	Rehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 5 i 3 minute
3.	Rehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 minute
4.	Rehidracija u destiliranoj (demi) vodi	2 minute
5.	Nanijeti otopinu za bojenje na preparat, 2 mL	20 minuta
6.	Pažljivo isprati u destiliranoj vodi	
7.	Obojiti preparat Reagensom 3 (Nuclear Fast Red reagens), 2 mL	5 minuta
8.	Isprati u destiliranoj vodi	
9.	Dehidracija u 70%-tnom alkoholu (Histanol 70)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
10.	Dehidracija u 95%-tnom alkoholu (Histanol 95)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
11.	Dehidracija u 100%-tnom alkoholu (Histanol 100)	2 izmjene u trajanju od 1 minute
12.	Bistrenje u ksilenu (BioClear) ili supstitutu ksilena (BioClear New)	2 izmjene u trajanju od 2 minuta

Odmah nakon bistrenja, na preparat nanijeti odgovarajuću vrstu BioMount sredstva za prekrivanje/montiranje pokrovnog stakla. Ako je korišten BioClear ksilen, upotrijebiti jedno od BioGnostovih sredstava za montiranje na bazi ksilena (BioMount, BioMount High, BioMount M, BioMount DPX, BioMount C ili univerzalni BioMount New). Ako je korišten BioClear New supstituit ksilena, odgovarajuće sredstvo za prekrivanje je BioMount New. Prekriti preparat VitroGnost pokrovnim staklom.

NAPOMENA

Moguće je koristiti i sredstvo na vodenoj bazi BioMount Aqua za montiranje pokrovnica, odmah nakon završnog ispiranja u destiliranoj vodi i sušenja preparata. U tom slučaju dehidracija i bistrenje nisu potrebni.

Rezultat

Slobodni ioni željeza (Fe^{3+}) – plava boja granula

Jezgre – crvena boja

Citoplazma – ružičasta boja

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.

Sklađštenje, stabilnost i rok valjanosti

LeukoGnost PERLS komplet čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od $+15^{\circ}C$ do $+25^{\circ}C$. Ne zamrzavati i ne izlagati direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

Literatura

1. Dharwadkar, A. et al. (2016): Study of sideroblasts and iron stores in bone marrow aspirates using Perls' stain, Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University, str. 181-185.
2. Culling, C.F.A. (1974): Handbook of histopathological and histochemical techniques, 2 ed ed., Butterworth, London, UK.
3. Sheehan D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): Theory and Practice Histotechnology, 2nd ed., CV Mosby, St. Louis, (MO), pp 52, str. 14-167.

LKG-PERLS, V3, 31.01.2023., SB/IŠP

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

 BIOGNOST d.o.o.
Međugorska 59
10040 Zagreb
CROATIA
www.biognost.com

