

# LEUKOGNOST PLUS

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

## Set dodatnih reagensa za LeukoGnost komplete

### UPUTA ZA RUKOVANJE

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

#### Uvod

Za adekvatnu procjenu enzimске aktivnosti u leukocitima pune krvi, koštane srži ili drugog citološkog materijala, neophodno je uzorke pravilno fiksirati. Reagens **LeukoGnost Fiksativ** se koristi za fiksaciju biološkog materijala koji se kasnije može upotrijebiti u različitim citokemijskim metodama uključujući i BioGnostove komplete za dijagnostiku leukemija iz serije LeukoGnost. Ovaj fiksativ osigurava optimalno očuvanje razine enzimске aktivnosti relevantne za postavljanje adekvatne kliničke dijagnoze.

BioGnostov **LeukoGnost HEM** je hematoksin koji se koristi kao boja za kontrastno bojenje staničnih jezgara. Preporuča se za progresivno bojenje uz komplete iz serije LeukoGnost za citokemijsku dijagnostiku leukemija. Prilikom bojenja, reagens LeukoGnost HEM ne interferira sa specifičnim obojenjima nastalim tijekom bojenja. LeukoGnost HEM je hematoksin visoke stabilnosti i jedna od formulacija hematoksilina koje se koriste u histopatologiji i citologiji radi preciznog bojenja staničnih jezgara. Prilikom bojenja krvnih preparata i preparata koštane srži ovim reagensom stanične jezgre su intenzivno tamnoplavo obojene. Hematoksin se dobiva ekstrakcijom iz kampehovog drva (*Haematoxylon campechianum* L). Oksidacijom hematoksilina u hematein i vezanjem s metalnim ionima (mordantima), hematein postaje nezamjenjiva nuklearna boja. Pozitivno nabijeni kompleks hematein-mordant veže se s negativno nabijenim fosfatnim ionima DNA stvarajući karakteristično plavo obojenje jezgre. LeukoGnost HEM je 50%-tno oksidirani hematoksin, s aluminijem kao mordantom i stabiliziran glikolima.

BioGnostov **BioMount Aqua** je sredstvo za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakalaca na vodenoj bazi. Osigurava očekivanu providnost preparata s indeksom loma koji je sličan indeksu loma predmetnog i pokrovnog stakla pri čemu ne dolazi do neželjenog loma zraka svjetlosti dajući jasnu i detaljnu sliku preparata. Koristi se kod obrade uzoraka kod kojih se određuje prisutnost enzima i lipida, tj. kod uzoraka koji se ne smiju dehidrirati kroz seriju alkoholnih otopina uzlaznih koncentracija i prosvjetljivati ksilenom i supstitutima ksilena.

#### Opis proizvoda

**LEUKOGNOST PLUS** – komplet s dodatnim reagensima za LeukoGnost komplete

| Komplet sadrži:     | LKG-PLUS (za 100 testiranja) | Temperatura skladištenja |
|---------------------|------------------------------|--------------------------|
| LeukoGnost Fiksativ | LKF-500 (500 mL)             | 15-25 °C                 |
| LeukoGnost HEM      | LKH-OT-500 (500 mL)          | 15-25 °C                 |
| BioMount Aqua       | BMA-30 (30 mL)               | 15-25 °C                 |

- **LEUKOGNOST FIKSATIV** – fiksativ na bazi acetona i formalina, pogodan za fiksaciju razmaza krvi i koštane srži
- **LEUKOGNOST HEM** – hematoksin za primjenu u LeukoGnost kompletima
- **BIOMOUNT AQUA** - sredstvo na vodenoj bazi za prekrivanje mikroskopskih preparata i montiranje pokrovnih stakala, pH=7,0, srednjeg viskoziteta 200 cSt i indeksa loma  $n_D = 1,390-1,400$  pri temperaturi od 20 °C

#### Reagensi koji mogu biti upotrijebljeni s LeukoGnost PLUS kompletom:

- BioGnostovi kompleti iz serije LeukoGnost koji se koriste za otkrivanje i klasifikaciju leukemija: **LeukoGnost MPO** (komplet za detekciju mijeloperoksidazne aktivnosti u leukocitima), **LeukoGnost ALP** (komplet za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima), **LeukoGnost ACP** (komplet za detekciju aktivnosti kisele fosfataze u leukocitima), **LeukoGnost NSE** (komplet za detekciju aktivnosti nespecifične esteraze u leukocitima), **LeukoGnost SPE** (komplet za detekciju aktivnosti specifične esteraze u leukocitima), **LeukoGnost PAS** (komplet za detekciju reakcije perjordne kiseline i Schiffovog reagensa u leukocitima) i **LeukoGnost SPENSE** (komplet za istovremenu detekciju aktivnosti specifične i nespecifične esteraze u leukocitima).
- 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.
- VitroGnost pokrovna stakla dimenzija od 18x18 mm do 24x60 mm.
- BioGnostova sredstva za imeriziju poput Imerzijskog ulja, Imerzijskih ulja tipova A, C, FF, 37 ili Imerzijskog ulja Tropical Grade.

#### Postupak

##### Priprema preparata za fiksaciju

Kao polazni materijal za fiksiranje se koriste svježi, osušeni razmazi pune krvi ili koštane srži, ili precipitat centrifugiranog uzorka. Upotreba EDTA kao antikoagulansa se ne preporuča zbog interakcije s enzimima što posljedično rezultira slabijim bojenjem preparata kompletima za dijagnostiku leukemija iz serije LeukoGnost.

##### Postupak fiksacije

|    |   |            |
|----|---|------------|
| 1. | Nanijeti LeukoGnost Fiksativ (1-2 mL) na preparat             | 1-3 minute |
| 2. | Ispirati destiliranom vodom                                   | 10 sekundi |
| 3. | Osušiti preparat na zraku i dalje bojiti kompletom LeukoGnost |            |

##### Postupak bojenja preparata

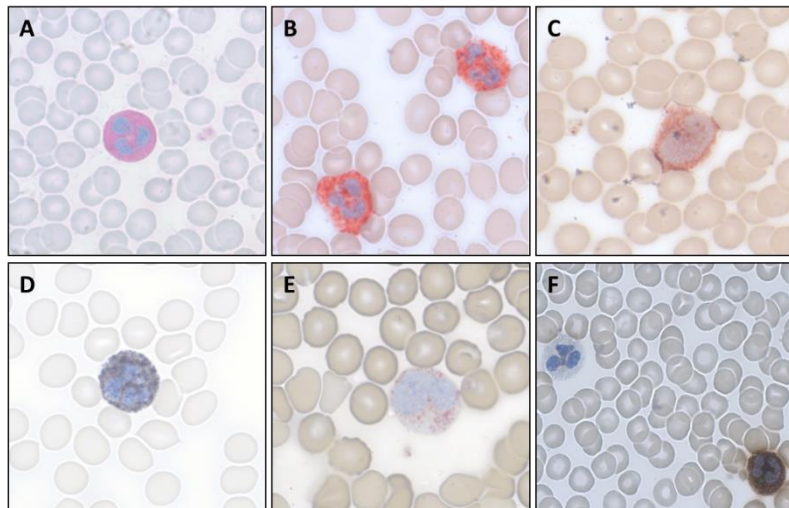
Bojenje provesti prema uputi iz odgovarajućeg kompleta za dijagnostiku leukemija iz serije LeukoGnost.

## Montiranje pokrovnih stakalaca na preparat

Nakon bojenja i ispiranja, preparat na osušiti propisani način. Pomoću kapaljke se na horizontalno postavljeno predmetno staklo nanese kap sredstva BioMount Aqua. Pažljivo staviti čisto pokrovno stakalce na način da se što više izbjegne stvaranje mjehurića zraka. Pritisnuti pokrovno stakalce kako bi sloj BioMount Aqua između dva stakalca bio što tanji i kako bi se uklonili eventualni mjehurići zraka. Ostaviti predmetno staklo u horizontalnom položaju dok se medij ne osuši. Za sušenje i stvrdnjavanje BioMount Aqua potrebno je do 10 minuta.

## Rezultat bojenja reagensom LeukoGnost HEM

Jezgre - plava boja



**Slika 1.** Prikaz razmaza periferne krvi obojenih kompletima **LeukoGnost PAS (A)**, **LeukoGnost SPE (B)**, **LeukoGnost NSE (C)**, **LeukoGnost MPO (D)**, **LeukoGnost ACP (E)** i **LeukoGnost ALP (F)**. Prikazani su neutrofilii (A, B, D i F) i monociti (C i E). Za fiksaciju je korišten **LeukoGnost Fiksativ**, a za kontrastno bojenje jezgara **LeukoGnost HEM**. Povećanje 1000x.

## Priprema uzorka i dijagnostika

Za uzimanje i pripremu uzoraka koristiti prikladne instrumente. Uzorke obraditi najsuvremenijom 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

Reagense LeukoGnost PLUS kompleta čuvati u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +15°C do +25°C. Držati na suhom, ne zamrzavati ih i ne izlagati ih direktnoj sunčevoj svjetlosti. Datum proizvodnje i rok valjanosti otisnuti su na etiketi proizvoda.

## Literatura

1. Boon M.E., Drijver J.S. (1986): Routine cytological staining techniques: theoretical background and practice, Macmillan Education LTD
2. Cook, D. J. (2006): *Cellular Pathology*, 2<sup>nd</sup> ed., Banbury: Scion Publishing Ltd.
3. Kiernan, J.A. (2008): *Histological and Histochemical Methods, Theory and Practice*, 4<sup>th</sup> ed., Scion Publishing Ltd, Banbury.
4. Gill, G.W., Frost, J.K, Miller, K.A. (1974): A new formula for half-oxidized hematoxylin formula that neither overstains nor requires differentiation. *Acta Cytol.* 1974;18:300-301.
5. Gill, G.W. (2006): Enviro-Pap: an environmental friendly, economical, and effective Pap stain. *Lab. Med.* 37: str. 105-108.
6. Papanicolaou, G.N. (1954): A new procedure for staining vaginal smears. *Science.* 95: str. 438-439.
7. Sheehan, D.C. et Hrapchak, B.B. (1980): *Theory and Practice of Histotechnology*, 2<sup>nd</sup> ed., St. Louise: CV Mosby Co.
8. J.D. Bancroft, M. Gamble (2008). *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone Elsevier.
9. F. L. Carson (1926). *Histotechnology: a self-instructional text*. American Society for Clinical Pathology.
10. S. Ravikumar, R. Surekha, R. Thavarajah (2014). Mounting media: An overview. *Journal Dr.NTR Unoversity of Health Sciences*; 3: 1-8.
11. V. Buehler (2005). *Polyvinylpyrrolidone Excipients for Pharmaceuticals*. Springer Verlag.
12. K.A. Curtis, D. Miller, P. Millard, S. Basu, F. Horkay, P.L. Chandran (2016). Unusual Salt and pH Induced Changes in Polyethylenimine Solutions. *PLOS One*; 11: e0158147.

LKG-PLUS, V3, 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                      |  Oprez lomljivo           |  Proizvođač     |

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



**BIOGNOST®**