

LEUKOGNOST ACP

IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod CE

Komplet za detekciju aktivnosti kisele fosfataze u leukocitima

UPUTA ZA RUKOVANJE

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

Uvod

Komplet LeukoGnost ACP sadrži reagense za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija na preparatima pune krvi ili koštane srži. Metoda se temelji na sposobnosti stanične fosfataze da u kiseloj okolini hidrolizira naftol AS-BI fosfat. U toj reakciji nastaje naftol AS-BI koji u reakciji s diazo-solima stvara netopivi crvenosmeđi precipitat na mjestu reakcije.

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

Opis proizvoda

- **LEUKOGNOST ACP** – komplet za detekciju aktivnosti kisele fosfataze u leukocitima

Komplet sadrži:	LKG-ACP (za 50 testiranja)	Temperatura skladištenja
Reagens 1 (Natrijev nitrit, otopina)	NAN-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 2 (Fast Garnet GBC, otopina)	FGGBC-OT-2 (2 mL)	2-8°C
Reagens 3 (ACP pufer)	NAP-OT-100 (100 mL)	2-8°C
Reagens 4 (ACP supstrat)	NASBI-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 5 (ACP inhibitor)	NATA-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 imerziju 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.
- korak 4 (opcija s inhibicijom kisele fosfataze): u mješavinu iz koraka 3 dodati Reagens 5.

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
korak 4 (opcionarno: kod inhibicije)	Reagens 5	400 µL (8 kapi)	4,8 mL	9,6 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 od +2 do +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.

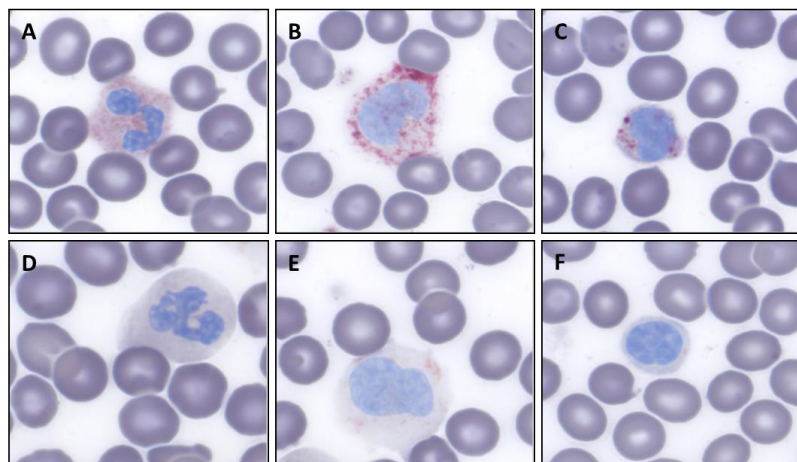
Postupak bojenja uzorka

1.	Nanijeti otopinu za bojenje (s ili bez inhibitora fosfataze) (1-2 mL) na preparat	3 sata
2.	Snažno isprati preparat u destiliranoj vodi	10 sekundi
3.	Osušiti preparat	
4.	Preparat obojiti LeukoGnost HEM reagensom	15 minuta
5.	Ispirati preparat pod tekućom vodovodnom vodom	3 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

Većina leukocita – crveno granulirano obojenje citoplazme; u slučaju korištenja otopine za bojenje s inhibitorom kisele fosfataze nema obojenja. Kod korištenja otopine za bojenje koja uključuje inhibitor kisele fosfataze, ne dolazi do specifičnog obojenja većine leukocita nego se crveno granulirano obojenje citoplazme pojavljuje samo kod vlasastih stanica leukemije.



Slika 1. Prikaz razmaza periferne krvi obojenih kompletom LeukoGnost ACP. Prikazani su neutrofili (A,D), monociti (B, E) limfociti (C, F). Bojenje je izvedeno bez (A, B, C) ili s (D, E, F) inhibitorom kisele fosfataze. 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 ACP 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

- Carson, F.L. et Hladik, C. (2009): Histology, 3 ed., American Society for Clinical Pathology Press, Hong Kong.
- Crook, L., Liu, P.I., Cannon, A., Walker Jr.E.M. Histochemistry of Bone Marrow Aspirations. Ann Clin Lab Sci. 1980;10:290-304.
- Li, C.Y., Yam, L.T., Lam, K.W. Acid Phosphatase Isoenzyme in Human Leukocytes in Normal and Pathologic Conditions. J Histochem Cytochem. 1970;18:473-481.
- Morse, E.E., Quinn, J., Altman, A., Talaizedeh, M., Brassel, J., Taubman, S. The Use of Leukocyte Acid Phosphatase in the Diagnosis of Malignant Disease. Case Report and Review of Literature. Ann Clin Lab Sci. 1980;10:143-8.
- Shibata, A., Bennett, J.M., Castoldi, G.L., Catovsky, D., Flandrin, G., Jaffe, E.S., Katayama, I., Nanba, K., Schmalzl, F., Yam, L.T., et al. Recommended methods for cytological procedures in haematology. International Committee for Standardization in Haematology (ICSH). Clin Lab Haematol. 1985;7:55-74.

LKG-ACP, 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	Oprez lomljivo	Proizvođač

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

BIOGNOST®