

LEUKOGNOST NAP



IVD In vitro dijagnostički medicinski proizvod

Razvrstavanje prema Uredbi (EU) 2017/746 - proizvod Klase A

Komplet za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze u neutrofilnim leukocitima UPUTA ZA RUKOVANJE

OSNOVNI UDI broj	385889212HPC30702CYTOS9		
EMDN kód	W01030702		
REF Kataloški broj	Volumen	UDI-DI broj	
LKG-NAP	za najmanje 100 testiranja	03858892126240	

Namjena proizvoda i načelo testiranja

Komplet LeukoGnost NAP sadrži reagense za citokemijsko dijagnosticiranje leukemija na preparatima pune krvi ili koštane srži. Ovim kompletom moguće je diferencirati kroničnu mijeloičnu leukemiju (CML) od leukemoidne reakcije i ostalih mijeloproliferativnih poremećaja. Metoda se temelji na sposobnosti alkalne fosfataze neutrofilnih leukocita da katalizira hidrolizu naftol AS-BI fosfata u alkalnoj otopini. U toj reakciji nastaje slobodni naftol AS-BI koji u reakciji s diazo-solima stvara netopivi plavi precipitat na mjestu reakcije. Komplet je dizajniran za pojedinačno testiranje vodoravno postavljenih preparata i sadrži reagense za najmanje 100 testova detekcije aktivnosti alkalne fosfataze u leukocitima. Reagensi se nanose kapanjem dok se ne prekrije cijeli preparat (1-2 mL).

Opis proizvoda

- LeukoGnost NAP - Komplet za detekciju aktivnosti alkalne fosfataze u neutrofilnim leukocitima

Komplet sadrži:	LKG-NAP (za 100 testiranja)	Temperatura skladištenja:
Reagens 1 (Natrijev nitrit, otopina)	NAN-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagens 2 (Fast Blue BB, otopina)	FBBB-OT-10 (10 mL)	2-8°C
Reagens 3 (NAP pufer)	TRIS-OT-100 (2x100 mL)	2-8°C
Reagens 4 (NAP supstrat)	NAPI-OT-10 (10 mL)	2-8°C
Reagens 5 (Neutral Red, otopina)	NRED-OT-100 mL (2x100 mL)	2-8°C

Ostali reagensi potrebni u metodi bojenja

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

Ostali popratni reagensi koji mogu biti upotrijebljeni u metodi bojenja

- BioGnostova sredstva za imeriziju 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.

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	100 µL (2 kapi)	1,2 mL (24 kapi)	2,4 mL (48 kapi)
korak 2	Reagens 3	2 mL	24 mL	48 mL
korak 3	Reagens 4	100 µL (2 kapi)	1,2 mL (24 kapi)	2,4 mL (48 kapi)

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.
- Nije preporučeno koristiti antikoagulanse jer može doći do inhibicije enzimske reakcije.
- Preparat fiksirati na slijedeći 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.

Otopinu za bojenje pripremiti svježu prije svakog bojenja. Pripremljenu otopinu moguće je koristiti unutar 45 minuta.

Uzorke inkubirati 15 minuta na sobnoj temperaturi (15-25 °C) kako bi se izbjegle promjene u enzimske aktivnosti.

Testiranje raditi uz pozitivne i negativne kontrole. Za pozitivnu kontrolu mogu se koristiti uzorci krvi pacijenata s infektivnom leukocitozom, trudnica u trećem tromjesečju te zdravih osoba. Negativna kontrola može se dobiti uranjanjem fiksiranog preparata u kipuću vodu na 1 minutu.

Enzim je gotovo isključivo prisutan u citoplazmi zrelih neutrofilnih leukocita. Kod nesegmentiranih neutrofilnih leukocita aktivnost je slabije izražena. Značajno pozitivna reakcija uočava se i kod retikuloendotelnih stanica na preparatima koštane srži.

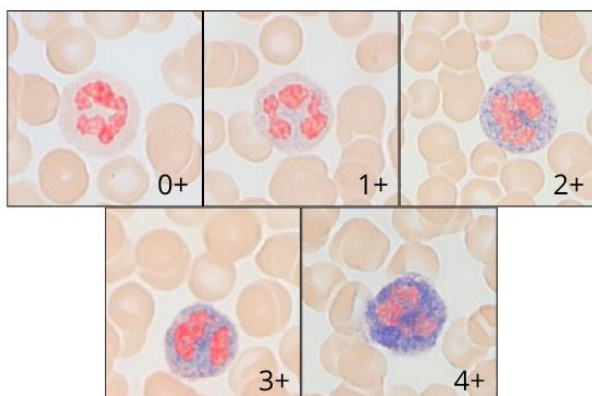
Postupak bojenja uzorka

1.	Nanijeti otopinu za bojenje (1-2 mL) na preparat i zaštititi od direktne sunčeve svjetlosti	15 minuta
2.	Snajžno isprati preparat pod destiliranom/demineraliziranom vodom i ne dozvoliti da se osuši	10 sekundi
3.	Obojiti preparat Neutral Red reagensom	2 minute
4.	Isprati preparat pod destiliranom/demineraliziranom vodom	2 minute
5.	Osušiti preparat na zraku	

Napomena: Neutral Red je boja koja se ponaša kao pH indikator te mijenja boju iz crvene u žutu boju u području pH vrijednosti 6,8-8,0. Za očuvanje crvene boje jezgara leukocita, koristiti vodu za ispiranje čija je pH vrijednost ispod 6,8. Ukoliko se pri evaluaciji preparata primijeti obezbojenje jezgara leukocita, provjeriti pH vode. Ako je potrebno montirati pokrovno stakalce, koristiti sredstvo na vodenoj bazi.

Rezultat

Stanice u završnoj fazi granulopoeze – plavo granulirano obojenje citoplazme.



Slika 1. Prikaz razmaza normalne krvi obojenih kompletom LeukoGnost NAP. Prikazani su specifično obojeni neutrofilni leukociti.

Ocjena gradacije obojenja u 5 kategorija, modificirano prema Kaplowu:

0+ : nema obojenja

1+ : sporadične granule, vrlo slabo obojenje

2+ : veći broj granula koje daju slabo obojenje

3+ : veći broj granula koje daju srednje jako obojenje

4+ : veliki broj intenzivno obojenih granula koje daju jako obojenje

Preparat pregledati na tankom dijelu gdje se eritrociti međusobno ne preklapaju (pri povećanju 1000x). Ocijeniti stupanj obojenja 100 uzastopnih neutrofilnih leukocita prema Slici 1. Broj neutrofila pomnožiti s pripadajućim stupnjem obojenja. Suma ovih brojeva predstavlja ukupnu ocjenu obojenja preparata (NAP broj) te kod zdravih pojedinaca iznosi 13-130. Aktivna faza kronične mijeloidne leukemije karakterizirana je značajno sniženom vrijednosti NAP broja, dok je kod leukemoidne reakcije broj povišen. Preporuka je da svaki laboratorij izradi vlastiti referentni interval prema populaciji svojih pacijenata.

Ograničenja

Ovaj proizvod namijenjen je samo za profesionalnu laboratorijsku upotrebu u dijagnostičke svrhe. Odstupanja od postupka bojenja opisanog u ovoj Uputi za rukovanje mogu uzrokovati razlike u rezultatima obojenja.

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, bojenje uzoraka i postavljanje dijagnoze može provoditi samo kvalificirano osoblje. Koristiti mikroskop opremljen prema standardima medicinskog dijagnostičkog laboratorija. Kako bi se izbjegao pogrešan rezultat, preporuča se korištenje pozitivne i negativne kontrole.

Ukoliko tijekom upotrebe proizvoda ili kao posljedica njegove upotrebe, dođe do ozbiljnog incidenta, molimo prijavite ga proizvođaču i/ili ovlaštenom predstavniku i nadležnom tijelu.

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

Po primitku, proizvod skladištiti i čuvati na suhom, u dobro zatvorenoj originalnoj ambalaži na temperaturi od +2 °C do +8 °C. Ne zamrzavati ih i ne izlagati ih direktno sunčevoj svjetlosti. Nakon prvog otvaranja, proizvod se može upotrebljavati do navedenog roka trajanja, ukoliko je pravilno skladišten. 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. Kaplow LS. A histochemical procedure for localizing and evaluating leukocyte alkaline phosphatase activity in smears of blood and marrow. Blood. 1955;10(10):1023-9.
5. Kaplow LS. Cytochemistry of leukocyte alkaline phosphatase. Use of complex naphthol as phosphates in azo dye coupling techniques. Am J Clin Pathol. 1963;39:439-49.

Upozorenja i mjere opreza u vezi s materijalima sadržanima u proizvodu:

	<p>H290 Može nagrizati metale. H315 Nadražuje kožu. H319 Uzrokuje jako nadraživanje oka. P234 Čuvati samo u originalnom pakiranju. P280 Nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. P303+P361+P353 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu vodom ili tuširanjem. P305+P351+P338 U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispirati.</p>
---	--

LKG-NAP-IFU, HRV3, 19.12.2025., IŠP

 Proizvođač	 Broj serije	 Pročitati priloženu uputu	 Sadrži dovoljno za <n>testova
 Datum proizvodnje	 Kataloški broj	 Oprez	 Europska sukladnost
 Rok uporabe	 Temperaturno ograničenje	 Samo za <i>in vitro</i> dijagnostičku primjenu	 Jedinstvena identifikacija proizvoda

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

Verzija	Opis / razlog izmjene	Datum
3.	Dodatak "Napomene" unutar sekcije "Postupak bojenja uzorka"	09.12.2025.