

# LEUKOGNOST MPO VERTIMAS

IVD In vitro diagnostikos medicinos prietaisas



Rinkinys mieloperoksidazės aktyvumui leukocituose nustatyti

## NAUDOJIMO INSTRUKCIJA

REF Produkto kodas: LKG-MPO (mažiausiai 100 testų)

Įvadas

LeukoGnost MPO rinkinyje yra reagentų citocheminei leukemijos diagnostikai naudojant kaulų čiulpų ar viso kraujo tepinėlius. Dažymo metodas pagrįstas ląstelių mieloperoksidazės gebėjimu katalizuoti vandenilio peroksido redukciją, sukuriant vandenį ir deguonį, kuris oksiduojasi. 4-chlor-1-naftolis, kuris savo ruožtu formuoja nuo tamsiai mėlynos iki juodos spalvos nuosėdas aktyvias peroksidazės vietoje. Rinkinys skirtas individualiam horizontaliai išdėstytų stiklelių tyrimui ir jame yra reagentų, skirtų ne mažiau kaip 100 tyrimų, skirtų leukocitų mieloperoksidazės aktyvumui nustatyti. Reagentai tepami lašinant, kol bus padengtas visas stiklelis (1-2 ml).

Produkto aprašymas •

LEUKOGNOST MPO – rinkinys mieloperoksidazės aktyvumui leukocituose nustatyti

Komplekte yra:	LKG-MPO (100 testų)	Laikymo temperatūra:
1 reagentas (MPO buferis)	PBSL-OT-100 (2 x 100 ml)	2-8°C
2 reagentas (MPO substratas)	4K1N-OT-10 (10 ml)	2-8°C
3 reagentas (vandenilio peroksidas, tirpalas)	VPO-OT-10 (10 ml)	2-8°C

Kiti reagentai, reikalingi dažymo metodui

- LeukoGnost Fixative (LKF-500) – fiksatorius, skirtas citocheminei leukemijos diagnostikai.
- LeukoGnost HEM (LKF-OT-500) – hematoksilinas, skirtas citocheminei leukemijos diagnostikai

arba

- LeukoGnost PLUS (LKG-PLUS) – papildomų reagentų rinkinys LeukoGnost rinkiniams

Kiti skyriai ir reagentai, kuriuos galima naudoti atliekant dažymo procedūrą

- Vandens pagrindo dengiamoji terpė mikroskopo stiklėms ir tvirtinimo priemonė stiklų dengiamiesiems stiklams, pvz., BioGnost BioMount Aqua terpė (BMA-30)
- „BioGnost“ imersinės alyvos, tokios kaip imersinė alyva (IU-30) arba A tipo imersinė alyva (IUA-30)

Tirpalo paruošimas dažymui

Paruoškite dažymo tirpalą tokiu būdu:

- 1 veiksmas:

sumaišykite 1 reagentą ir 2 reagentą švariame mėgintuvėlyje

- 2 veiksmas: 3 reagentą įpilkite į 1 ir 2 reagentų mišinį.

Jei reikia, pakeiskite reagentų tūrį:

ŽINGSNIS	REAGENTAS	UŽ 1 SKYRIUS	12 SKYRIŲ	24 SKYRIUS
1 žingsnis	reagentas 1	2 ml	24 ml	48 ml
	reagentas 2	100 µL (4 lašai)	1,2 ml	2,4 ml
2 žingsnis	3 reagentas	100 µL (2 lašai)	1,2 ml	2,4 ml

Sekcijos paruošimas dažymui

- Paruoškite kraujo čiulpų ar viso kraujo tepinėlių, kad jis būtų plonas ir sausas (tepinėlius džiovinkite mažiausiai 30 min.). Šios sekcijos neturi būti senesnės nei 3 dienos.
- Nerekomenduojama vartoti antikoagulantų, nes jie gali slopinti fermentų reakciją.
- Pataisykite skyrių taip:

1.	Pritvirtinkite mėginį ant stiklelio užtepdami LeukoGnost Fixative (1-2 ml)	1-3 minutes
2.	Nuplaukite stiklėlį distiliuotu vandeniu	10 sekundžių
3.	Išdžiovinkite stiklėlį	

- Tokiu būdu paruoštus ir fiksuotus mėginius galima laikyti 2-8 °C temperatūroje ir naudoti ne ilgiau kaip 3 dienas.

PASTABA

Taikykite reagentą taip, kad jis visiškai uždengtų stiklėlį.

Prieš kiekvieną dažymą paruoškite šviežią dažymo tirpalą. Paruoštą tirpalą reikia suvartoti per 3 valandas.

#### Mėginio dažymo procedūra

1.	Ant mėginio užtepkite dažymo tirpalą (1–2 mL).	10 min
2.	Kruopščiai nuplaukite sekciją distiliuotu vandeniu.	10 sekundžių
3.	Nudažykite mėginį naudodami LeukoGnost HEM reagentą	2 min
4.	Pjūvį nuplaukite po vandeniu iš čiaupo.	2 min
5.	Išdžiovinkite preparatą	

Išdžiovinus mėginį, siekiant išsaugoti mėginio spalvą ir kokybę, rekomenduojama uždengti dengiamąjį stiklą naudojant BioMount Aqua medium.

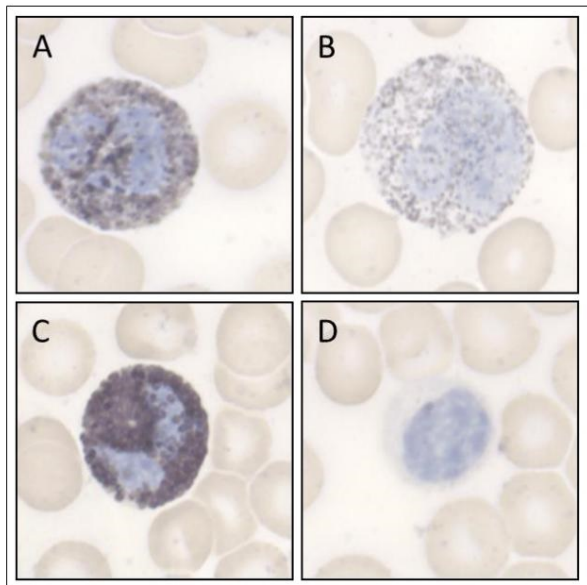
#### Rezultatas

Neutrofilai – intensyvus juodas granuliuotas citoplazminis dažymas

Monocitai – neryškus raudonas granuliuotas citoplazminis dažymas

Eozinofilai – labai intensyvus juodas granuliuotas citoplazminis dažymas

Limfocitai, bazofilai – specifinio dažymo nėra



1 pav. Normalaus kraujo tepinėliai, nudažyti LeukoGnost MPO rinkiniu. Rodomi neutrofilai (A), monocitai (B), eozinofilai (C) ir limfocitai (D).

#### Mėginio paruošimas ir diagnostika

Mėginiams rinkti ir ruošti naudokite tik tinkamus instrumentus. Apdorokite pavyzdžius šiuolaikinėmis technologijomis ir aiškiai pažymėkite.

Tvarkydami laikykitės gamintojo nurodymų. Siekiant išvengti klaidų, dažymo procedūrą ir diagnostiką turėtų atlikti tik įgalioti ir kvalifikuoti darbuotojai. Naudokite tik mikroskopą pagal medicinos diagnostikos laboratorijos standartus.

#### Darbo sauga ir aplinkos apsauga

Su gaminiu elkitės laikydamiesi saugos darbe ir aplinkos apsaugos nurodymų. Panaudoti tirpalai ir pasenę tirpalai turi būti šalinami kaip specialios atliekos pagal nacionalines gaires. Šioje procedūroje naudojamos cheminės medžiagos gali kelti pavojų žmonių sveikatai. Ištirti audinių mėginiai yra potencialiai užkrečiami. Būtinios saugos priemonės žmonių sveikatai apsaugoti turėtų būti imamos laikantis geros laboratorinės praktikos. Veikti pagal ženklus ir įspėjimus, išspausdintus ant gaminio etiketės, taip pat BioGnost medžiagų saugos duomenų lape.

#### Sandėliavimas, stabilumas ir galiojimo laikas

LeukoGnost MPO rinkinio reagentus laikykite sandariai uždarytoje originalioje pakuotėje, temperatūroje nuo +2 °C iki +8 °C. Neužšaldykite ir nelaikykite tiesioginių saulės spindulių. Gamybos data ir galiojimo laikas yra atspausdinti ant gaminio etiketės.

#### Nuorodos

1. Carson, FL ir Hladik, C. (2009): Histology, 3rd ed., American Society for Clinical Pathology Press, Honkongas.
2. Shibata, A., Bennett, JM, Castoldi, GL, Catovsky, D., Flandrin, G., Jaffe, ES, Katayama, I., Nanba, K., Schmalzl, F., Yam, LT ir kt. . Rekomenduojami metodai, skirti citologinės procedūros hematologijoje. Tarptautinis hematologijos standartizacijos komitetas (ICSH). Clin Lab Hematol. 1985;7:55-74.

2021 m. birželio 14 d.,

	European Conformity		Storage temperature range		Number of tests in package		Product code
	Refer to supplied instructions		Keep away from heat and sunlight		Valid until		Lot number
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Keep in dry place		Caution - fragile		Manufacturer

# LEUKOGNOST MPO

IVD In vitro diagnostic medical device

CE

## Kit for detection of myeloperoxidase activity in leukocytes

### INSTRUCTIONS FOR USE

REF Product code: LKG-MPO (for at least 100 tests)

#### Introduction

LeukoGnost MPO kit contains reagents for cytochemical diagnosis of leukemia using bone marrow or whole blood smears. The staining method is based on ability of cellular myeloperoxidase to catalyze hydrogen peroxide reduction, creating water and oxygen that oxidizes 4-chloro-1-naphthol, what in turn forms dark blue to black precipitates at the spot of active peroxidase. The kit is intended for individual testing of horizontally placed slides and it contains reagents for at least 100 tests for detecting myeloperoxidase activity in leukocytes. The reagents are applied by dripping until the entire slide is covered (1-2 mL).

#### Product description

- **LEUKOGNOST MPO** - kit for detection of myeloperoxidase activity in leukocytes

The kit contains:	LKG-MPO (for 100 tests)	Storage temperature:
Reagent 1 (MPO buffer)	PBSL-OT-100 (2x100 mL)	2-8°C
Reagent 2 (MPO substrate)	4K1N-OT-10 (10 mL)	2-8°C
Reagent 3 (Hydrogen peroxide, solution)	VPO-OT-10 (10 mL)	2-8°C

#### Other reagents necessary for the staining method

- **LeukoGnost Fixative (LKF-500)** – fixative for use in cytochemical diagnosis of leukemia
- **LeukoGnost HEM (LKF-OT-500)** – hematoxylin for use in cytochemical diagnosis of leukemia

or

- **LeukoGnost PLUS (LKG-PLUS)** – set of additional reagents for LeukoGnost kits

#### Other sections and reagents that may be used with the staining procedure

- Water-based covering medium for microscope slides and mounting medium for cover glasses, such as BioGnost's **BioMount Aqua medium (BMA-30)**
- BioGnost's immersion oils, such as **Immersion oil (IU-30)** or **Immersion oil type A (IUA-30)**

#### Preparing the solution for staining

##### Prepare the staining solution in the following way:

- step 1: mix Reagent 1 and Reagent 2 in a clean tube
- step 2: add Reagent 3 to mixture of Reagents 1 and 2

##### Modify the reagents' volume as necessary:

STEP	REAGENT	FOR 1 SECTION	FOR 12 SECTIONS	FOR 24 SECTIONS
step 1	reagent 1	2 mL	24 mL	48 mL
	reagent 2	100 µL (4 drops)	1.2 mL	2.4 mL
step 2	reagent 3	100 µL (2 drops)	1.2 mL	2.4 mL

#### Preparing the section for staining

- Prepare the blood marrow or whole blood smear to be thin and dry (dry the smears for at least 30 mins). These sections must not be older than 3 days.
- Using anticoagulants is not recommended because it can inhibit the enzyme reaction.
- Fix the section the following way:

1.	Fix the sample by applying LeukoGnost Fixative (1-2 mL) onto the slide	1-3 minutes
2.	Rinse the slide in distilled water	10 seconds
3.	Dry the slide	

- Samples prepared and fixed in this manner can be stored at 2 to 8 °C and used for 3 days at most.

#### NOTE

Apply the reagent so it completely covers the slide.

**Prepare fresh staining solution priori to each staining. The prepared solution must be used within 3 hours.**

### Sample staining procedure

1.	Apply staining solution (1-2 mL) on the sample	10 min
2.	Rinse the section in distilled water thoroughly	10 seconds
3.	Stain the sample using LeukoGnost HEM reagent	2 min
4.	Rinse the section under tap water.	2 min
5.	Dry the preparation	

After drying the sample, it is recommended to mount cover glass using BioMount Aqua medium to preserve the color and quality of the sample.

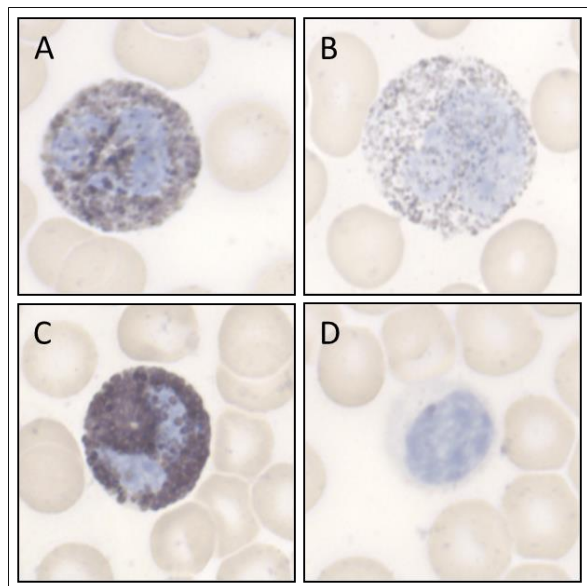
### Result

Neutrophils - intensive black granular cytoplasmic staining

Monocytes - faint red granular cytoplasmic staining

Eosinophils - very intensive black granular cytoplasmic staining

Lymphocytes, basophils - no specific staining



**Figure 1. Smears of normal blood stained with LeukoGnost MPO kit. Neutrophil (A), monocyte (B), eosinophil (C) and lymphocyte (D) are shown.**

### Preparing the sample and diagnostics

Use only appropriate instruments for collecting and preparing the samples. Process the samples with modern technology and mark them clearly. Follow the manufacturer's instructions for handling. In order to avoid mistakes, the staining procedure and diagnostics should only be conducted by authorized and qualified personnel. Use only microscope according to standards of the medical diagnostic laboratory.

### Safety at work and environmental protection

Handle the product in accordance with safety at work and environmental protection guidelines. Used solutions and out of date solutions should be disposed of as special waste in accordance with national guidelines. Chemicals used in this procedure could pose danger to human health. Tested tissue specimens are potentially infectious. Necessary safety measures for protecting human health should be taken in accordance with good laboratory practice. Act in accordance with signs and warnings notices printed on the product's label, as well as in BioGnost's material safety data sheet.

### Storing, stability and expiry date

Store LeukoGnost MPO kit's reagents in a tightly closed original packaging at temperature between +2 °C and +8 °C. Do not freeze and avoid exposing to direct sunlight. Date of manufacture and expiry date are printed on the product's label.

### References

1. Carson, F.L. et Hladik, C. (2009): Histology, 3<sup>rd</sup> ed., American Society for Clinical Pathology Press, Hong Kong.
2. 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-MPO, V5-EN1, 14 June 2021, MŠ/IŠP

	European Conformity		Storage temperature range		Number of tests in package		Product code
	Refer to supplied instructions		Keep away from heat and sunlight		Valid until		Lot number
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Keep in dry place		Caution - fragile		Manufacturer

**BioGnost Ltd.**  
Medjugorska 59  
10040 Zagreb  
Croatia, EU  
[www.biognost.com](http://www.biognost.com)



**BIOGNOST®**