

LEUKOGNOST NSE VERTIMAS

IVD In vitro diagnostikos medicinos prietaisas



Rinkinys nespecifiniam esterazės aktyvumui leukocituose nustatyti

NAUDOJIMO INSTRUKCIJA

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

Įvadas

LeukoGnost NSE rinkinyje yra reagentų, skirtų citocheminei leukemijos diagnostikai naudojant kaulų čiulpų ar viso kraujo tepinėlius. Dažymo metodas pagrįstas ląstelinės esterazės gebėjimu hidrolizuoti 1-naftilacetatą. Reakcijos metu išsiskiria laisvas naftolis, kuris jungiasi su diazonio druskomis ir reakcijos vietoje susidaro raudonai rudos nuosėdos.

Rinkinys skirtas individualiam horizontaliai išdėstytų stiklėlių tyrimui ir jame yra reagentų, skirtų mažiausiai 100 tyrimų, skirtų rūgštinės fosfatazės aktyvumui leukocituose nustatyti. Reagentai tepami lašinant, kol bus padengtas visas stiklėlis (1-2 ml).

Produkto aprašymas

LEUKOGNOST NSE - rinkinys, skirtas leukocitų nespecifiniam esterazės aktyvumui nustatyti

Komplekte yra:	LKG-NSE (100 testų)	Laikymo temperatūra:
1 reagentas (natrio nitritas, tirpalas)	NAN-OT-5 (5 ml)	2-8°C
2 reagentas (parazanilinas, tirpalas)	PARA-OT-3 (3 ml)	2-8°C
3 reagentas (NSE buferis)	NSEP-OT-100 (2 x 100 ml)	2-8°C
4 reagentas (NSE substratas)	NAFA-OT-10 (10 ml)	2-8°C
5 reagentas (NSE inhibitorius)	NAFO-OT-15 (3 x 15 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 stiklėlėms 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

Dažymo tirpalą paruoškite taip:

- 1 veiksmas: sumaišykite 1

ir 2 reagentą švariame mėgintuvėlyje. Palikite 2 minutes.

- 2 veiksmas: į 1 ir 2 reagentų mišinį įpilkite 3 reagento
- 3 veiksmas: į paruoštą 2 veiksmo reagentų mišinį įpilkite 4 reagento
- 4 veiksmas (parinktis, įskaitant nespecifinį esterazės slopinimą): į mišinį įpilkite 5 reagento iš 3 žingsnio

Jei reikia, pakeiskite reagentų tūrį:

ŽINGSNIS	REAGENTAS	UŽ 1 SKYRIUS	12 SKYRIŲ	24 SKYRIUS
1 žingsnis	reagentas 1	50 µL (1 lašas)	600 µL (12 lašų)	1,2 ml (24 lašai)
	reagentas 2	25 µL (1 lašas)	300 µL (12 lašų)	600 µL (24 lašai)
2 žingsnis	3 reagentas	2 ml	24 ml	48 ml
3 žingsnis	4 reagentas	100 µL (4 lašai)	1,2 ml	2,4 ml
4 veiksmas (pasirinktinai: su slopinimu)	reagentas 5	400 µL (8 lašai)	4,8 ml	9,6 ml

Sekcijos paruošimas dažymui

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

1.	Privirtinkite mėginį ant stiklėlio užtepdami LeukoGnost Fixative (1–2 ml).	1-3 minutes
2.	Išskalaukite stiklėlį distiliuotu vandeniu.	10 sekundžių
3.	Išdžiovinkite preparatą	

- 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 uždenktų stiklėlį. Prieš kiekvieną dažymą paruoškite šviežią dažymo tirpalą. Paruoštą tirpalą reikia suvartoti per 45 minutes.

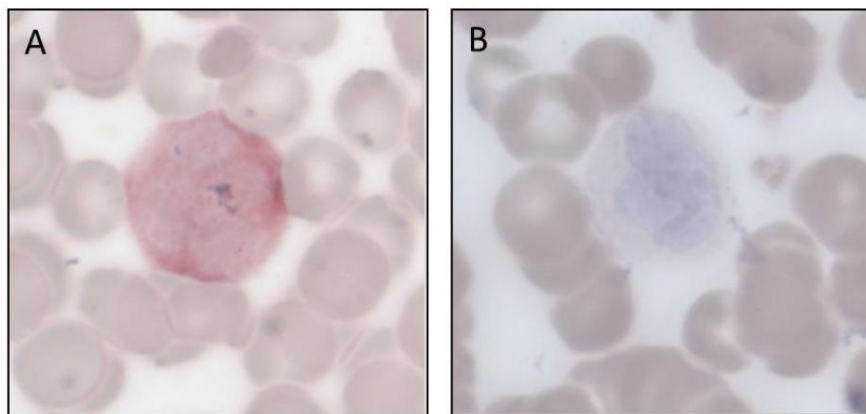
Mėginio dažymo procedūra

1.	Ant stiklėlio įpilkite dažymo tirpalo (su esterazės inhibitoriumi arba be jo) (1–2 ml).	1 valanda 30 min
2.	Energingai nuplaukite stiklėlį distiliuotu vandeniu	10 sekundžių
3.	Nudažykite stiklėlį naudodami LeukoGnost HEM reagentą	15 min
4.	Stiklėlį 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

Monocitai, plazminės ląstelės, eritroblastai, megakariocitai, monocitinės leukemijos ląstelės – rudai raudonas granuluotas citoplazminis dažymas Naudojant dažymo tirpalą, kuriame yra nespecifinio esterazės inhibitoriaus, nėra specifinio monocitų, plazmos ląstelių, eritroblastų, megakariocitų ir monocitinės leukemijos ląstelių dažymosi.



1 pav. Normalaus kraujo tepinėliai, nudažyti LeukoGnost NSE rinkiniu. Mėginiai nudažyti be (A) arba (B) nespecifinio esterazės inhibitoriaus. Parodomi monocitai.

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. Iširti audinių mėginiai yra potencialiai užkrečiami. Būtinės saugos priemonės žmonių sveikatai apsaugoti turėtų būti imamosi laikantis geros laboratorinės praktikos. Veikti pagal ženklus ir įspėjimus, išspausdintus ant gaminio etiketės, taip pat BioGnost medžiagų saugos duomenų lapę.

Sandėliavimas, stabilumas ir galiojimo laikas

LeukoGnost NSE rinkinio reagentus laikykite sandariai uždarytoje originalioje pakuotėje nuo +2 °C iki +8 °C temperatūroje. 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. Lam KW, Li CY, Yam LT. Vienalaikis nespecifinės esterazės ir chloroacetato esterazės demonstravimas žmogaus kraujo ląstelėse. Stain Technol. 1985;60:169-72.
3. Shibata A, Bennett JM, Castoldi GL, Catovsky D, Flandrin G, Jaffe ES, Katayama I, Nanba K, Schmalzl F, Yam LT ir kt. Rekomenduojami metodai citologiniam hematologijos procedūros. 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 NSE

IVD *In vitro* diagnostic medical device

CE

Kit for detection of non-specific esterase activity in leukocytes

INSTRUCTIONS FOR USE

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

Introduction

LeukoGnost NSE kit contains reagents for cytochemical diagnosis of leukemia using bone marrow or whole blood smears. The staining method is based on the ability of cellular esterase to hydrolyze 1-naphthyl acetate. The reaction releases free naphthol that binds to diazonium salts to give a red-brown precipitate at the reaction site.

The kit is intended for individual testing of horizontally placed slides and it contains reagents for at least 100 tests for detecting acid phosphatase activity in leukocytes. The reagents are applied by dripping until the entire slide is covered (1-2 mL).

Product description

- **LEUKOGNOST NSE** - kit for detection of non-specific esterase activity in leukocytes

The kit contains:	LKG-NSE (for 100 tests)	Storage temperature:
Reagent 1 (Sodium nitrite, solution)	NAN-OT-5 (5 mL)	2-8°C
Reagent 2 (Pararosaniline, solution)	PARA-OT-3 (3 mL)	2-8°C
Reagent 3 (NSE buffer)	NSEP-OT-100 (2x100 mL)	2-8°C
Reagent 4 (NSE substrate)	NAFA-OT-10 (10 mL)	2-8°C
Reagent 5 (NSE inhibitor)	NAFO-OT-15 (3x15 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. Let it set for 2 mins.
- step 2: add Reagent 3 to mixture of Reagents 1 and 2
- step 3: add Reagent 4 to the prepared mixture of Reagents from step 2
- step 4 (option including non-specific esterase inhibition): add Reagent 5 to the mixture from step 3

Modify the reagents' volume as necessary:

STEP	REAGENT	FOR 1 SECTION	FOR 12 SECTIONS	FOR 24 SECTIONS
step 1	reagent 1	50 µL (1 drop)	600 µL (12 drops)	1.2 mL (24 drops)
	reagent 2	25 µL (1 drop)	300 µL (12 drops)	600 µL (24 drops)
step 2	reagent 3	2 mL	24 mL	48 mL
step 3	reagent 4	100 µL (4 drops)	1.2 mL	2.4 mL
step 4 (optionally: with inhibition)	reagent 5	400 µL (8 drops)	4.8 mL	9.6 mL

Preparing the section for staining

- Prepare the blood marrow or whole blood smears to be thin and dry (dry the sample 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 preparation	

- 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 prior to each staining. The prepared solution must be used within 45 minutes.

Sample staining procedure

1.	Add the staining solution (with or without esterase inhibitor) (1-2 mL) onto the slide	1 hour 30 mins
2.	Rinse the slide in distilled water vigorously	10 seconds
3.	Stain the slide using LeukoGnost HEM reagent	15 min
4.	Rinse the slide 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

Monocytes, plasma cells, erythroblasts, megakaryocytes, monocyte leukemia cells - brown-red granular cytoplasmic staining

When using the staining solution that includes non-specific esterase inhibitor, there is no specific staining of monocytes, plasma cells, erythroblasts, megakaryocytes and monocytic leukemia cells.

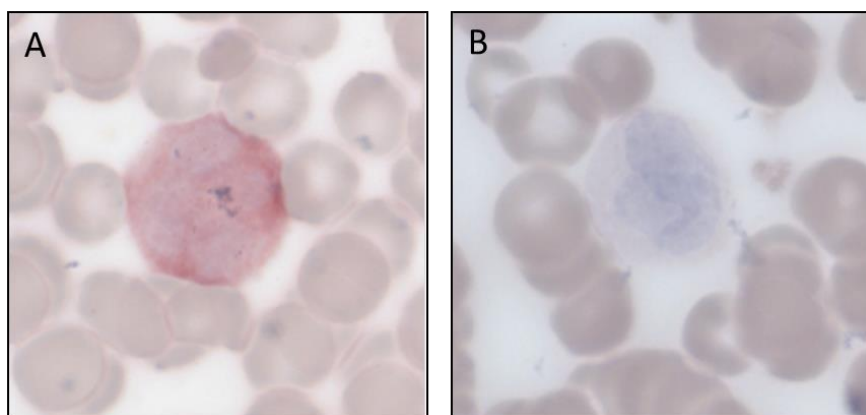


Figure 1. Smears of normal blood stained with LeukoGnost NSE kit. The samples are stained without (A) or with (B) non-specific esterase inhibitor. Monocytes are shown.

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 NSE 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, 3rd 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, Schmalzl 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.

LKG-NSE, 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



BIOGNOST®