

Instructions for Use

Leukocyte Acid Phosphatase (TRAP) Kit

Procedure No. 386



Intended Use

Sigma-Aldrich Acid Phosphatase kits are intended as a general laboratory use histological stain. Acid Phosphatase reagents are for professional "In Vitro Diagnostic Use" only. This manual, qualitative, histochemical procedure demonstrates acid phosphatase activity in leukocytes of human blood, bone marrow, and tissue touch preparations. Histochemical visualization of leukocyte associated acid phosphatase is a unique technique currently commonly used in medicine.

Use of substituted naphthol AS phosphates in conjunction with diazonium salts for detection of acid phosphatase in human leukocytes was first reported by Goldberg and Barka.¹ The Sigma-Aldrich procedure for demonstrating this leukocyte enzyme is based upon use of naphthol AS-BI phosphate and fast garnet GBC salt. The latter diazo compound was selected because it couples rapidly at acid pH, forming highly insoluble dye deposits. Tartaric acid is provided in order to demonstrate the presence of tartrate-resistant acid phosphatase.

According to the Sigma-Aldrich procedure, blood films are incubated in a solution containing naphthol AS-BI phosphoric acid and fast garnet GBC. Duplicate films are treated with L(+)-tartrate-containing substrate. Naphthol AS-BI, released by enzymatic hydrolysis, couples immediately with fast garnet GBC forming in soluble maroon dye deposits at sites of activity. Cells containing tartaric acid-sensitive acid phosphatase are devoid of activity, whereas those mononuclear cells containing tartaric acid-resistant phosphatase are not affected by such treatment.

Reagents

Citrate Concentrate (Cat. No. 3861-20ML)

Citrate buffer, 0.38 mol/L, pH 5.4 when diluted according to procedure

Tartrate Solution (Cat. No. 3862-20ML)

L(+)-Tartrate buffer, 0.67 mol/L, pH 5.2 when diluted according to procedure

Acetate Solution (Cat. No. 3863-50ML)

Acetate buffer, 2.5 mol/L, pH 5.2 when diluted according to procedure

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution (Cat. No. 3864-40ML)

Naphthol AS-BI phosphoric acid, 12.5 mg/mL, in N,N'-dimethyl formamide. Danger. Harmful in contact with skin. Causes serious eye irritation. Harmful if inhaled. May damage the unborn child. Wear protective gloves/protective clothing. IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

Fast Garnet GBC Salt (Cat. No. 38615-10CAP)

Fast garnet GBC salt, purified, 15 mg/capsule, C.I. 37210. Danger. May cause cancer. Obtain special instructions for use. IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.

Acid Hematoxylin Solution (Cat. No. 2852-100ML)

Hematoxylin, certified, 1 g/L, C.I. 75290, sodium iodate, aluminum ammonium sulfate, and stabilizers, pH 3.3 at 25°C.

Special Materials Required but Not Provided

- Acetone, ACS Reagent
- 37°C water bath

Storage and Stability

Store Citrate Concentrate, Tartrate Solution and Acetate Solution in refrigerator (2–8°C). Discard if turbidity develops.

Store Fast Garnet GBC Salt and Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution in refrigerator (2–8°C). Color of Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution may vary from pale to dark yellow. Reagents are stable until expiration date shown on bottles.

Store Acid Hematoxylin Solution at room temperature (18–26°C). Discard when time for suitable staining exceeds time recommended in procedure by more than 5 minutes.

Dilute citrate solution is suitable for use in the absence of visible microbial growth. Citrate/Acetone solution should be kept tightly capped when not in use. Prepare fresh daily.

Preparation

Dilute Citrate solution is prepared by adding 2.0 mL Citrate Concentrate to 18.0 mL water.

The Citrate/Acetone solution is prepared by adding 20.0 mL dilute citrate solution to 30.0 mL acetone.

NOTE: Keep Citrate/Acetone Solution tightly capped when not in use. Prepare fresh daily.

Precautions

These IVD's are intended for in vitro diagnostic use in a clinical laboratory environment. These IVDs are for professional use by qualified personnel only. Sigma-Aldrich IVDs may be operated by laboratory personnel who are trained to handle human specimens that can be infectious, use microscopes and other laboratory equipment and have color perception and visual acuity to distinguish colors and other objects under a microscope.

Normal precautions exercised in handling laboratory reagents should be followed. Dispose of waste observing all local, state, provincial or national regulations.

Procedure

Specimen Collection

No known test method can offer complete assurance that blood samples or tissue will not transmit infection. Therefore, all blood derivatives or tissue specimens should be considered potentially infectious.

Blood, bone marrow films, tissue touch preparations and cytocentrifuge preparations may be used. Either EDTA or heparin will serve as anticoagulants. Blood or bone marrow films may be stored fixed at room temperature (18–26°C) for several weeks or unfixed for several days without appreciable change in activity.² Do not ship whole blood for assay at other laboratories. Send fixed or unfixed slides. Slides should be kept cool during transit. Allow films to dry at least 1 hour prior to fixation.

Notes

Test performance can be monitored by including blood films prepared from a healthy individual. In the absence of tartaric acid, all leukocytes demonstrate granular sites of activity. When incubated with tartrate, an occasional granule may be observed in lymphocytes, but all other normally occurring cells are devoid of activity.

Procedure

Fixation

1. Fix slide in Citrate/Acetone Solution for 30 seconds at room temperature (18–26°C).
2. Rinse slides in deionized water and allow to air dry for at least 15 minutes.

Staining

1. Label two 100 mL beakers A and B and add the following, mixing after each addition:

	Beaker A	Beaker B
Water, prewarmed to 37°C	46.0 mL	44.0 mL
Acetate Solution	2.0 mL	2.0 mL
Naphthol AS-BI Phosphoric Acid	2.0 mL	2.0 mL
Tartrate Solution	—	2.0 mL

2. Add contents of 1 capsule Fast Garnet GBC Salt to each beaker. Stir on magnetic mixer 30–60 seconds.
3. Rapidly filter solutions through Whatman® No. 54 (or equivalent) paper into separate labeled staining jars.
4. Warm solutions in staining jars to 37°C in water bath. Check that temperature is at 37°C before adding slides.
5. Place at least 2 duplicate fixed blood films in each jar containing the filtered substrate solution.
6. Incubate slides 1 hour at 37°C in the dark.
7. Remove slides and wash in deionized water for 3 minutes.
8. Stain in Acid Hematoxylin Solution for 5 minutes.
9. Rinse slides in deionized water for 3 minutes and allow to air dry.
10. Evaluate microscopically using oil immersion (900X) lens. Use of solvent based mounting media is not recommended as they may cause fading of the stains.

Performance Characteristics

Stained blood films are usually evaluated subjectively for the presence or absence of tartrate-resistant enzyme. In the absence of tartaric acid, most leukocytes demonstrate granular sites of activity. When incubated with tartrate, an occasional granule may be observed in lymphocytes and some specialized macrophages.³ In blood smears a positive reaction is denoted by the presence of more than two cells with diffuse and intense activity, i.e., more than 40 granules.³ To evaluate Golgi staining, characteristic of thymus derived lymphocytes (T-cells), Sigma-Aldrich Procedure No. 181 is recommended.

Acid Phosphatase activity appears as purplish to dark red granules in the cytoplasm of most leukocytes.

If observed results vary from expected results, please contact Sigma-Aldrich Technical Service for assistance.

Analytical Performance Characteristics

The analytical performance results for the given tests conducted on all target structures, confirm 100% sensitivity, specificity, and repeatability.

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
3861	Citrate Concentrate	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3862	Tartrate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3863	Acetate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3864	Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
38615	Fast Garnet GBC Salt	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
2852	Acid Hematoxylin Solution	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

Refer to Safety Data Sheet and product labeling for any updated risk, hazard or safety information.

386A:



- H290 May be corrosive to metals.
- H312 Harmful in contact with skin.
- H314 Causes severe skin burns and eye damage.
- H331 Toxic if inhaled.
- H350 May cause cancer.
- H360 May damage the unborn child.
- P202 Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
- P234 Keep only in original packaging.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

If during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorized representative and to your national authority.

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

	Manufacturer		Catalogue Number
	Consult Instructions for Use		Batch Code
	Authorized Representative in the European Community/ European Union		European Union Declaration of Conformity (defined in IVDR 2017/746)
	Use-by Date		In vitro diagnostic medical device
	Temperature Limit		Caution
	Date of Manufacture		Importer
	Indicates the Authorised Representative in Switzerland		

References

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Contact Information

To place an order, please visit our web site at SigmaAldrich.com. For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at SigmaAldrich.com/techservice.

Revision History

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Removed reference number 4. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

The Initial M and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Anweisungen für den Gebrauch

Saure Phosphotase, Leukozyten (TRAP) – Kit

Verfahren Nr. 386



Verwendungszweck

Die saure Phosphotase-Kits von Sigma-Aldrich sind als allgemeine histologische Färbemittel für den Laborgebrauch bestimmt. Die Reagenzien für die saure Phosphatase sind für die professionelle „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Dieses manuelle, qualitative, histochemische Verfahren weist die Aktivität von saurer Phosphotase in Leukozyten aus menschlichem Blut, Knochenmarksausstrichen und Gewebetupfpräparaten nach. Die histologische Visualisierung der Leukozyten-assoziierten sauren Phosphotase ist eine einzigartige Technik, die derzeit in der Medizin häufig eingesetzt wird.

Die Verwendung von substituierten Naphthol-AS-Phosphaten in Verbindung mit Diazoniumsalzen zum Nachweis von saurer Phosphatase in menschlichen Leukozyten wurde erstmals von Goldberg und Barka beschrieben.¹ Das Verfahren von Sigma-Aldrich zum Nachweis dieses Leukozyten-Enzyms basiert auf der Verwendung von Naphthol-AS-BI-Phosphat und Echtgranatsalz GBC. Die letztgenannte Diazoverbindung wurde ausgewählt, weil sie bei saurem pH-Wert sehr schnell eine Verbindung eingeht und dabei stark unlösliche Farbstoffablagerungen bildet. Weinsäure dient zum Nachweis von tartratresistenter saurer Phosphatase.

Entsprechend dem Verfahren von Sigma-Aldrich werden Blutausrich in einer Lösung aus Naphthol AS-BI Phosphorsäure und Echtgranat-GBC inkubiert. Duplikatausrich werden mit einem L(+) -tartrathaltigen Substrat behandelt. Das durch enzymatische Hydrolyse freigesetzte Naphthol AS-BI verbindet sich sofort mit dem Echtgranat-GBC und bildet in den Bereichen, an denen es aktiv ist, lösliche rotbraune Ablagerungen. Zellen, die weinsäureempfindliche saure Phosphatase enthalten, zeigen keine Aktivität, während mononukleäre Zellen, die weinsäureresistente Phosphatase enthalten, von einer solchen Behandlung nicht beeinflusst werden.

Reagenzien

Citratkonzentrat (Kat.-Nr. 3861-20ML)
Citratpuffer, 0,38 mol/l, pH-Wert 5,4 bei einer Verdünnung gemäß dem Verfahren

Tartratlösung (Kat.-Nr. 3862-20ML)
L(+) -Tartratpuffer, 0,67 mol/l, pH-Wert 5,2 bei einer Verdünnung gemäß dem Verfahren

Acetatlösung (Kat.-Nr. 3863-50ML)
Acetatpuffer, 2,5 mol/l, pH-Wert 5,2 bei einer Verdünnung gemäß dem Verfahren

Naphthol AS-BI Phosphorsäure-Lösung (Kat.-Nr. 3864-40ML)
Naphthol AS-BI Phosphorsäure, 12,5 mg/ml, in N,N'-Dimethylformamid. Gefahr. Gesundheitsschädlich bei Kontakt mit der Haut. Verursacht schwere Augenreizungen. Gesundheitsschädlich beim Einatmen. Kann das ungeborene Kind schädigen. Schutzhandschuhe/ Schutzbekleidung tragen. WENN IM AUGE: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

Echtgranatsalz GBC (Kat.-Nr. 38615-10CAP)
Echtgranatsalz GBC, gereinigt, 15 mg/Kapsel, C.I. 37210. Gefahr. Kann Krebs erzeugen: Informieren Sie sich über besondere Hinweise zur Verwendung. BEI Exposition oder Möglichkeit einer Exposition: Holen Sie sich ärztlichen Rat/ärztliche Hilfe.

Saure Hämatoxilin-Lösung (Kat.-Nr. 2852-100ML)
Hämatoxilin, zertifiziert, 1 g/l, C.I. 75290, Natriumiodat, Aluminiumammoniumsulfat und Stabilisatoren, pH-Wert 3,3 bei 25 °C.

Spezielle Materialien, die erforderlich sind, aber nicht zur Verfügung gestellt werden

- Aceton, ACS-Reagenz
- 37 °C Wasserbad

Lagerung und Stabilität

Citratkonzentrat, Tartratlösung und Acetatlösung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Bei Entstehung von Trübungen entsorgen.

Echtgranatsalz GBC und Naphthol AS-BI Phosphorsäurelösung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Die Farbe der Naphthol AS-BI Phosphorsäurelösung kann von einem hellen bis zu einem dunklen Gelbton variieren. Die Reagenzien sind bis zu dem auf den Flaschen angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Die saure Hämatoxilin-Lösung bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. Wenn die Zeit für eine angemessene Färbung die im Verfahren empfohlene Zeit um mehr als 5 Minuten übersteigt, muss die Lösung entsorgt werden.

Die verdünnte Citratlösung kann verwendet werden, wenn kein sichtbares mikrobielles Wachstum vorhanden ist. Die Citrat-/Acetonlösung muss fest verschlossen aufbewahrt werden, wenn sie nicht verwendet wird. Täglich frisch zubereiten.

Vorbereitung

Zur Herstellung der verdünnten Citratlösung 2,0 ml Citratkonzentrat mit 18,0 ml Wasser mischen.

Die Citrat-/Acetonlösung wird durch Zugabe von 20,0 ml verdünnter Citratlösung zu 30,0 ml Aceton hergestellt.

HINWEIS: Die Citrat-/Acetonlösung bei Nichtgebrauch fest verschlossen aufbewahren. Täglich frisch zubereiten.

Vorsichtsmaßnahmen

Diese IVDs sind für die In-vitro-Diagnostik in einer klinischen Laborumgebung bestimmt. Diese IVDs sind nur für den professionellen Gebrauch durch qualifiziertes Personal bestimmt. Die IVDs von Sigma-Aldrich können von Laborpersonal bedient werden, das im Umgang mit menschlichen Proben, die infektiös sein können, geschult ist, Mikroskope und andere Laborgeräte bedienen kann und über eine Farbwahrnehmung und Sehschärfe verfügt, um Farben und andere Objekte unter dem Mikroskop zu unterscheiden.

Beim Umgang mit Laborreagenzien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Entsorgen Sie den Abfall unter Einhaltung aller örtlichen, staatlichen, regionalen oder nationalen Vorschriften.

Verfahren

Probenentnahme

Keine bekannte Testmethode kann vollständige Sicherheit bieten, dass Blutproben oder Gewebe keine Infektion übertragen. Daher sollten alle Blutderivate oder Gewebeproben als potenziell infektiös betrachtet werden.

Es können Blut, Knochenmarksausstriche, Gewebetupfpräparate und Zytocentrifugenpräparate verwendet werden. Als Antikoagulanzen können EDTA und Heparin verwendet werden. Blut- und Knochenmarksausstriche können mehrere Wochen lang fixiert bei Raumtemperatur (18–26 °C) bzw. mehrere Tage lang unfixiert aufbewahrt werden, ohne dass eine bedeutende Veränderung der Aktivität eintritt.² Vollblutproben dürfen nicht zur Untersuchung an andere Labors geschickt werden. Stattdessen fixierte oder nicht fixierte Objektträger senden. Die Objektträger sollten während des Transports kühl gelagert werden. Ausstriche vor dem Fixieren mindestens 1 Stunde trocknen lassen.

Anmerkungen

Die Leistungsfähigkeit des Tests kann durch die Einbeziehung von Blutausrichen von gesunden Personen kontrolliert werden. In Abwesenheit von Weinsäure zeigen alle Leukozyten Bereiche mit granulärer Aktivität. Bei der Inkubation mit Tartrat lässt sich in Lymphozyten gelegentlich eine Granulierung beobachten. Alle anderen normal vorkommenden Zellen weisen jedoch keine Aktivität auf.

Verfahren

Fixierung

1. Den Objektträger für 30 Sekunden bei Raumtemperatur (18–26 °C) in einer Citrat-/Acetonlösung fixieren.
2. Die Objektträger mit entionisiertem Wasser abspülen und mindestens 15 Minuten an der Luft trocknen lassen.

Färbung

1. Zwei 100-ml-Bechergläser mit A und B beschriften und die folgenden Substanzen zugeben. Nach jeder Zugabe mischen.

	Becherglas A	Becherglas B
Wasser, vorgewärmt auf 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Acetatlösung	2,0 ml	2,0 ml
Naphthol AS-BI Phosphorsäure	2,0 ml	2,0 ml
Tartratlösung	–	2,0 ml

2. Den Inhalt einer Kapsel des Echtgranatsalzes GBC in jedes Becherglas geben. Mit dem Magnetrührer 30–60 Sekunden lang rühren.
3. Die Lösungen schnell über Whatman® Nr. 54 (oder ein vergleichbares Material) in separate, beschriftete Färbetröge filtern.
4. Die Lösungen in den Färbetrögen im Wasserbad auf 37 °C erwärmen. Vor dem Einsetzen der Objektträger überprüfen, dass die Temperatur 37 °C beträgt.
5. Mindestens zwei Duplikate der fixierten Blutausrich in jedes Gefäß mit der filtrierten Substratlösung geben.
6. Die Objektträger 1 Stunde bei 37 °C im Dunkeln inkubieren.
7. Die Objektträger herausnehmen und 3 Minuten lang in entionisiertem Wasser spülen.
8. Für 5 Minuten in saurer Hämatoxilin-Lösung färbem.
9. Die Objektträger 3 Minuten lang mit entionisiertem Wasser abspülen und an der Luft trocknen lassen.
10. Unter dem Mikroskop unter dem Ölimmersionsobjektiv (900-fache Vergrößerung) untersuchen. Die Verwendung von lösungsmittelbasierten Trägermaterialien wird nicht empfohlen, da sie ein Verlassen der Färbungen verursachen können.

Leistungsmerkmale

Gefärbte Blutausrich werden üblicherweise subjektiv auf das Vorhandensein oder Fehlen von tartratresistentem Enzym bewertet. In Abwesenheit von Weinsäure weisen die meisten Leukozyten Bereiche mit granulärer Aktivität auf. Bei der Inkubation mit Tartrat kann gelegentlich eine Granulierung in Lymphozyten und einigen spezialisierten Makrophagen beobachtet werden.³ In Blutausrichen zeigt sich eine positive Reaktion durch das Vorhandensein von mehr als zwei Zellen mit diffuser und intensiver Aktivität, d. h. mit mehr als 40 Granula.³ Zur Beurteilung der Golgi-Färbung, die für aus dem Thymus stammende Lymphozyten (T-Zellen) charakteristisch ist, wird das Sigma-Aldrich-Verfahren Nr. 181 empfohlen.

Die Aktivität der sauren Phosphatase zeigt sich als violette bis dunkelrote Granulate im Zytoplasma der meisten Leukozyten.

Wenn die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen abweichen, wenden Sie sich bitte an den Technischen Service von Sigma-Aldrich, um Unterstützung zu erhalten.

Analytische Leistungsmerkmale

Die Ergebnisse der analytischen Leistung für die gegebenen Tests, die für alle Zielstrukturen durchgeführt wurden, bestätigen eine 100%ige Sensitivität, Spezifität und Wiederholbarkeit.

Kat.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
3861	Citratkonzentrat	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3862	Tartratlösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3863	Acetatlösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3864	Naphthol AS-BI Phosphorsäure-Lösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
38615	Echtgranatsalz GBC	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
2852	Saure Hämatoxilin-Lösung	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

Aktuelle Risiko-, Gefahren- und Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt und auf der Produktkennzeichnung.

386A:



- H290 Kann ätzend auf Metalle wirken.
- H312 Gesundheitsschädlich bei Kontakt mit der Haut.
- H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H331 Giftig beim Einatmen.
- H350 Kann Krebs erzeugen.
- H360 Kann das ungeborene Kind schädigen.
- P202 Nicht handhaben, bevor Sie nicht alle Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben.
- P234 Nur in der Originalverpackung aufbewahren.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310 BEIM EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

Wenn während der Verwendung dieses Geräts oder als Folge seiner Verwendung ein schwerwiegender Zwischenfall eingetreten ist, melden Sie dies bitte dem Hersteller und/oder seinem bevollmächtigten Vertreter sowie Ihrer nationalen Behörde.

Symbol-Definitionen

Symbole gemäß der Definition in EN ISO 15223-1:2021

	Hersteller		Katalognummer
	Anweisungen für den Gebrauch beachten		Chargencode
	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union		Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum		Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Weist auf den bevollmächtigten Vertreter in der Schweiz hin		

Referenzen

- 1. Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- 2. Jancikla A, Li CY, et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- 3. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter SigmaAldrich.com. Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter SigmaAldrich.com/techservice.

Revisionshistorie

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023
Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Referenznummer 4 wurde entfernt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. CH-REP-Informationen wurden hinzugefügt.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Die Initiale M und Sigma-Aldrich sind Marken der Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland oder ihrer Tochtergesellschaften. Alle anderen Marken sind das Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber. Ausführliche Informationen über Marken sind über öffentlich zugängliche Quellen erhältlich.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Mode d'emploi

Kit de phosphatase acide leucocytaire (TRAP)

Procédure n° 386



Utilisation prévue

Les kits de phosphatase acide de Sigma-Aldrich sont destinés à la coloration histologique générale en laboratoire. Les réactifs de détection de la phosphatase acide sont destinés aux professionnels et à un « usage en diagnostic *in vitro* » uniquement. Cette procédure histochimique manuelle et qualitative met en évidence l'activité de la phosphatase acide dans les leucocytes des frottis sanguins, de moelle osseuse humains et d'empreintes tissulaires. La visualisation histologique de la phosphatase acide associée aux leucocytes est une technique unique couramment utilisée en médecine.

L'utilisation de phosphates de naphthol AS substitués avec des sels de diazonium pour la détection de la phosphatase acide dans les leucocytes humains a été décrite pour la première fois par Goldberg et Barka.¹ La procédure de Sigma-Aldrich pour la mise en évidence de cette enzyme leucocytaire repose sur l'utilisation du phosphate de naphthol AS-BI et du sel de grenat solide GBC. Ce dernier composé diazoïque a été choisi parce qu'il se couple rapidement à un pH acide, formant des dépôts de colorant hautement insolubles. De l'acide tartrique est fourni afin de mettre en évidence la présence de phosphatase acide tartrate résistante.

Selon la procédure de Sigma-Aldrich, les frottis sanguins sont incubés dans une solution contenant du naphthol AS-BI-acide phosphorique et du grenat solide GBC. Les frottis en double sont traités avec un substrat contenant du L(+)-tartrate. Le naphthol AS-BI, libéré par l'hydrolyse enzymatique, se couple immédiatement avec le grenat solide GBC, formant ainsi des dépôts de colorant marron insolubles sur les sites d'activité. Les cellules contenant de la phosphatase acide sensible à l'acide tartrique ne présentent aucune activité, tandis que les cellules mononucléées contenant de la phosphatase résistante à l'acide tartrique ne sont pas affectées par ce traitement.

Réactifs

Citrate concentré (réf. 3861-20ML)

Tampon citrate, 0,38 mol/l, pH 5,4 lorsqu'il est dilué conformément à la procédure.

Solution de tartrate (réf. 3862-20ML)

Tampon L(+)-tartrate, 0,67 mol/l, pH 5,2 lorsqu'il est dilué conformément à la procédure.

Solution d'acétate (réf. 3863-50ML)

Tampon acétate, 2,5 mol/l, pH 5,2 lorsqu'il est dilué conformément à la procédure.

Solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique (réf. 3864-40ML)

Naphthol AS-BI-acide phosphorique, 12,5 mg/ml, dans du N,N'-diméthylformamide. Danger. Nocif par contact cutané. Provoque une sévère irritation des yeux. Nocif par inhalation. Peut nuire au fœtus. Porter des gants de protection/des vêtements de protection. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Sel de grenat solide GBC (réf. 38615-10CAP)

Sel de grenat solide GBC, purifié, 15 mg/gélule, C.I. 73210. Danger. Peut provoquer le cancer : se procurer les instructions avant l'utilisation. EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.

Solution d'hématoxyline acide (réf. 2852-100ML)

Hématoxyline, certifiée, 1 g/l, C.I. 75290, iodate de sodium, sulfate d'ammonium et d'aluminium et stabilisateurs, pH 3,3 à 25 °C.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Acétone, de qualité réactif ou de qualité ACS
- Bain-marie à 37 °C

Conservation et stabilité

Conserver le Citrate Concentrate, la solution Tartrate Solution et la solution Acetate Solution au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Les jeter s'ils deviennent troubles.

Conserver le sel de grenat solide GBC et la solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). La couleur de la solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique peut varier du jaune pâle au jaune foncé. Les réactifs sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur les flacons.

Conserver la solution d'hématoxyline acide à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Jeter la solution lorsque le temps nécessaire pour obtenir une coloration adéquate dépasse de plus de 5 minutes le temps recommandé dans la procédure.

La solution de citrate diluée peut être utilisée en l'absence de croissance microbienne visible. La solution de citrate/d'acétone doit être conservée hermétiquement fermée lorsqu'elle n'est pas utilisée. Préparer une nouvelle solution tous les jours.

Préparation

La solution de citrate diluée est préparée en ajoutant 2,0 ml de citrate concentré à 18,0 ml d'eau.

La solution de citrate/d'acétone est préparée en ajoutant 20,0 ml de solution de citrate diluée à 30,0 ml d'acétone.

REMARQUE : conserver la solution de citrate/d'acétone hermétiquement fermée lorsqu'elle n'est pas utilisée. Préparer une nouvelle solution tous les jours.

Précautions

Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à être utilisés en diagnostic *in vitro* au sein de laboratoires de biologie médicale. Ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* sont destinés à un usage professionnel par un personnel qualifié uniquement. Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* de Sigma-Aldrich peuvent être utilisés par le personnel de laboratoire formé à la manipulation d'échantillons humains potentiellement infectieux, à l'utilisation de microscopes et d'autres équipements de laboratoire et possédant une perception des couleurs et une acuité visuelle permettant de distinguer les couleurs ainsi que les autres objets au microscope.

Suivre les précautions habituelles lors de la manipulation de réactifs de laboratoire. Éliminer les déchets en respectant toutes les réglementations locales et nationales.

Procédure

Prélèvement des échantillons

Aucune méthode de test connue ne peut totalement garantir que les échantillons de sang ou de tissus ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les produits sanguins ou échantillons de tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Il est possible d'utiliser des frottis sanguins ou médullaires, des empreintes tissulaires et des préparations obtenues par cyto centrifugation. L'EDTA ou l'héparine serviront d'anticoagulants. Les frottis sanguins ou médullaires peuvent être conservés fixés à température ambiante (entre 18 et 26 °C) pendant plusieurs semaines ou non fixés pendant plusieurs jours sans aucun changement notable de l'activité.² Ne pas expédier le sang total à analyser vers d'autres laboratoires. Envoyer soit des lames fixées soit des lames non fixées. Les lames doivent être conservées au frais pendant le transport. Laisser les frottis sécher au moins 1 heure avant de les fixer.

Remarques

Les performances du test peuvent être contrôlées en incluant des frottis sanguins préparés à partir d'un individu en bonne santé. En l'absence d'acide tartrique, tous les leucocytes présentent des sites d'activité granulaires. Lors de l'incubation avec du tartrate, on peut observer une granulation occasionnelle dans les lymphocytes, mais toutes les autres cellules sont dépourvues normalement d'activité.

Procédure

Fixation

1. Fixer les lames dans la solution de citrate/d'acétone pendant 30 secondes à température ambiante (entre 18 et 26 °C).
2. Rincer les lames à l'eau déionisée et les laisser sécher à l'air libre pendant au moins 15 minutes.

Coloration

1. Étiqueter deux béchers de 100 ml A et B et ajouter les éléments suivants, en mélangeant après chaque ajout :

	Bécher A	Bécher B
Eau, préchauffée à 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Solution d'acétate	2,0 ml	2,0 ml
Naphthol AS-BI-acide phosphorique	2,0 ml	2,0 ml
Solution de tartrate	—	2,0 ml

2. Ajouter le contenu d'une (1) gélule de sel de grenat solide GBC dans chaque bécher. Mélanger à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 30 à 60 secondes.
3. Filtrer rapidement les solutions en utilisant du papier Whatman® n° 54 (ou un équivalent) dans des cuves à coloration séparées étiquetées.
4. Chauffer les solutions contenues dans les cuves à coloration dans un bain-marie à 37 °C. Vérifier que la température est bien à 37 °C avant d'ajouter les lames.
5. Placer au moins 2 frottis sanguins fixés en double dans chaque cuve contenant la solution de substrat filtrée.
6. Laisser les lames incuber pendant 1 heure à 37 °C dans l'obscurité.
7. Retirer les lames et les laver avec de l'eau déionisée pendant 3 minutes.
8. Colorer dans la solution d'hématoxyline acide pendant 5 minutes.
9. Rincer les lames à l'eau déionisée pendant 3 minutes et les laisser sécher à l'air libre.
10. Examiner les lames au microscope avec un objectif à immersion (900x). Il est déconseillé d'utiliser des milieux de montage à base de solvants, car ils peuvent provoquer une décoloration des colorations.

Caractéristiques de performance

Les frottis sanguins colorés sont généralement évalués de manière subjective ; le but étant de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme résistante au tartrate. En l'absence d'acide tartrique, la plupart des leucocytes présentent des sites d'activité granulaires. Lorsqu'ils sont incubés avec du tartrate, une granulation occasionnelle peut être observée dans les lymphocytes et dans certains macrophages spécialisés.³ Sur les frottis sanguins, une réaction positive est indiquée par la présence de plus de deux cellules présentant une activité intense diffuse, c'est-à-dire présentant plus de 40 granulations.³ Pour évaluer la coloration de Golgi, caractéristique des lymphocytes dérivés du thymus (lymphocytes T), la procédure n° 181 de Sigma-Aldrich est recommandée.

L'activité de la phosphatase acide apparaît sous la forme de granulations violacées à rouge foncé dans le cytoplasme de la plupart des leucocytes.

Si les résultats observés diffèrent des résultats attendus, contacter le service technique de Sigma-Aldrich pour obtenir de l'aide.

Caractéristiques de performance analytique

Les résultats des performances analytiques pour les tests concernés effectués sur toutes les structures cibles confirment une sensibilité, une spécificité et une répétabilité de 100 %.

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
3861	Citrate concentré	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3862	Solution de tartrate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3863	Solution d'acétate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3864	Solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
38615	Sel de grenat solide GBC	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
2852	Solution d'hématoxyline acide	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

Se reporter à la fiche de données de sécurité et à l'étiquetage du produit pour obtenir des informations mises à jour concernant les risques, les dangers et la sécurité.

386A :



- H290 Peut être corrosif pour les métaux.
- H312 Nocif par contact cutané.
- H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
- H331 Toxique par inhalation.
- H350 Peut provoquer le cancer.
- H360 Peut nuire au fœtus.
- P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
- P234 Conserver uniquement dans le récipient d'origine.
- P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P303 + P361 + P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.
- P304 + P340 + P310 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

Si, au cours de l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, un incident grave se produit, le signaler au fabricant et/ou à son représentant agréé ainsi qu'aux autorités nationales compétentes.

Définition des symboles

Symboles tels que définis dans la norme EN ISO 15223-1:2021

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 2.0	2014
Rév. 3.0	2016
Rév. 4.0	2023
Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro. Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Suppression de la référence bibliographique n° 4. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Ajout des informations sur le représentant agréé en Suisse.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

Istruzioni per l'uso

Kit fosfatasi acida leucocitaria (TRAP)

Procedura n. 386



Uso previsto

I kit per fosfatasi acida Sigma-Aldrich sono intesi come coloranti istologici generali per uso di laboratorio. I reagenti per fosfatasi acida sono destinati soltanto alla "diagnostica in vitro" professionale. Questa procedura qualitativa manuale istochimica rileva l'attività di fosfatasi acida nei leucociti del sangue umano, del midollo umano e dei preparati ottenuti per apposizione di tessuti. La visualizzazione istologica della fosfatasi acida associata ai leucociti è una tecnica unica al momento comunemente utilizzata in medicina.

L'impiego di sostituti dei naftolo AS fosfati insieme a sali di diazonio per la determinazione della fosfatasi acida nei leucociti umani è stato riferito per la prima volta da Goldberg e Barka.¹ La procedura di Sigma-Aldrich per rilevare la presenza di quest'enzima leucocitario si basa sull'uso di naftolo AS-BI fosfato e di sale Fast Garnet GBC. Quest'ultimo composto diazoico è stato scelto perché si lega rapidamente a pH acido, formando depositi di colorante altamente insolubili. L'acido tartarico viene fornito per accertare la presenza di fosfatasi acida tartrato-resistente.

Secondo la procedura di Sigma-Aldrich, gli strisci ematici vengono incubati in una soluzione contenente acido fosforico naftolo AS-BI e Fast Garnet GBC. Gli strisci duplicati vengono trattati con substrato contenente L(+)-tartrato. Il naftolo AS-BI, rilasciato per idrolisi enzimatica, si lega immediatamente con Fast Garnet GBC formando depositi di colorante marrone insolubili nelle sedi di attività. Le cellule contenenti fosfatasi acida sensibile all'acido tartarico sono prive di attività, mentre le cellule mononucleate contenenti fosfatasi resistente all'acido tartarico non risentono di tale trattamento.

Reagenti

Concentrato di citrato (N. di cat. 3861-20ML)
Tampone citrato, 0,38 mol/l, pH 5,4 se diluito secondo le modalità previste dalla procedura

Soluzione di tartrato (N. di cat. 3862-20ML)
Tampone tartrato L(+), 0,67 mol/l, pH 5,2 se diluito secondo le modalità previste dalla procedura

Soluzione di acetato (N. di cat. 3863-50ML)
Tampone acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2 se diluito secondo le modalità previste dalla procedura

Soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI (N. di cat. 3864-40ML)
Acido fosforico naftolo AS-BI, 12,5 mg/ml, in N,N'-dimetilformammide. Pericolo. Nocivo per contatto con la pelle. Provoca grave irritazione oculare. Nocivo se inalato. Può nuocere al feto. Indossare guanti/indumenti protettivi. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Sale Fast Garnet GBC (N. di cat. 38615-10CAP)
Sale Fast Garnet GBC, purificato, 15 mg/capsula, C.I. 37210. Pericolo. Può provocare il cancro. Procurarsi istruzioni specifiche per l'uso. IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.

Soluzione di ematossilina acida (N. di cat. 2852-100ML)
Ematossilina, certificata, 1 g/l, C.I. 75290, iodato di sodio, solfato di alluminio e ammonio e stabilizzanti, pH 3,3 a 25 °C.

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Acetone, reagente grado ACS
- Bagnomaria a 37 °C

Conservazione e stabilità

Conservare il concentrato di citrato, la soluzione di tartrato e la soluzione di acetato in frigorifero (2-8 °C). Scartare in presenza di torbidità.

Conservare il sale Fast Garnet GBC e la soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI in frigorifero (2-8 °C). Il colore della soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI può variare dal giallo pallido al giallo scuro. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sui flaconi.

Conservare la soluzione di ematossilina acida a temperatura ambiente (18-26 °C). Scartare quando il tempo per ottenere una colorazione idonea è più lungo di oltre 5 minuti rispetto a quello raccomandato nella procedura.

La soluzione diluita a base di citrato è idonea per l'uso in assenza di crescita microbica visibile. Conservare la soluzione citrato/acetone in un contenitore ben chiuso quando non viene utilizzata. Preparare una nuova soluzione ogni giorno.

Preparazione

Per preparare la soluzione diluita a base di citrato, aggiungere 2,0 ml di concentrato di citrato a 18,0 ml di acqua.

Per preparare la soluzione di citrato/acetone, aggiungere 20,0 ml di soluzione diluita a base di citrato a 30,0 ml di acetone.

NOTA: conservare la soluzione di citrato/acetone in un flacone ben chiuso quando non viene utilizzata. Preparare una nuova soluzione ogni giorno.

Precauzioni

Questi IVD sono destinati alla diagnostica in vitro in un ambiente di laboratorio clinico. Questi IVD sono destinati esclusivamente all'uso professionale da parte di personale qualificato. Gli IVD Sigma-Aldrich devono essere utilizzati da personale di laboratorio addestrato alla manipolazione di campioni biologici umani potenzialmente infettivi, come anche all'uso di microscopi e altre apparecchiature di laboratorio, che abbia la percezione del colore e l'acuità visiva necessari a distinguere i colori e altri oggetti al microscopio.

Seguire le normali precauzioni adottate nella manipolazione dei reagenti di laboratorio. Smaltire i rifiuti attenendosi a tutte le normative vigenti a livello locale, provinciale, regionale o nazionale.

Procedura

Raccolta dei campioni

Nessun metodo di analisi noto può garantire in modo assoluto che i campioni di sangue o tessuto non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i derivati del sangue o i campioni di tessuto devono essere considerati potenzialmente infettivi.

È possibile utilizzare strisci ematici, strisci midollari, preparati ottenuti per apposizione di tessuti e con citocentrifuga. Utilizzare EDTA o eparina come anticoagulante. Gli strisci ematici o midollari fissati possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C) per diverse settimane; se non fissati possono essere conservati per diversi giorni senza cambiamenti apprezzabili nell'attività.² Non spedire il sangue intero da analizzare ad altri laboratori. Inviare vetrini fissati o non fissati. Conservare i vetrini in borsa termica durante il trasporto. Lasciare asciugare i vetrini per almeno 1 ora prima della fissazione.

Note

Le prestazioni dei test possono essere verificate includendo strisci ematici provenienti da un donatore sano. In assenza di acido tartarico, tutti i leucociti evidenziano sedi di attività granulare. Quando incubati con tartrato, si può rilevare un granulo sporadico nei linfociti, ma tutte le altre cellule normalmente presenti sono prive di attività.

Procedura

Fissazione

1. Fissare i vetrini nella soluzione di citrato/acetone per 30 secondi, a temperatura ambiente (18-26 °C).
2. Sciacquare i vetrini con acqua deionizzata e lasciare asciugare all'aria per almeno 15 minuti.

Colorazione

1. Contrassegnare due becher da 100 ml con un'etichetta riportante A e B e procedere come segue, mescolando dopo ogni aggiunta:

	Becher A	Becher B
Acqua, preriscaldata a 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Soluzione di acetato	2,0 ml	2,0 ml
Acido fosforico naftolo AS-BI	2,0 ml	2,0 ml
Soluzione di tartrato	—	2,0 ml

2. Versare in ogni becher il contenuto di 1 capsula di sale Fast Garnet GBC. Mescolare con agitatore magnetico per 30-60 secondi.
3. Versare le soluzioni in vaschette per colorazione etichettate distinte filtrandole con carta Whatman® No. 54 (o equivalente).
4. Scaldare le soluzioni versate nelle vaschette per colorazione a bagnomaria a 37 °C. Prima di immergere i vetrini, verificare che la temperatura sia di 37 °C.
5. Immergere almeno 2 strisci di sangue fissati in duplicato in ciascuna vaschetta contenente la soluzione di substrato filtrato.
6. Incubare i vetrini per 1 ora a 37 °C al buio.
7. Rimuovere i vetrini e lavarli con acqua deionizzata per 3 minuti.
8. Colorare i vetrini per 5 minuti nella soluzione di ematossilina acida.
9. Sciacquare i vetrini con acqua deionizzata per 3 minuti e lasciarli asciugare all'aria.
10. Esaminare al microscopio utilizzando una lente speciale per immersione in olio (900X). Si sconsiglia l'uso di mezzi di montaggio a base di solventi in quanto potrebbero alterare le colorazioni.

Caratteristiche prestazionali

Dopo la colorazione, gli strisci ematici si analizzano di solito soggettivamente per rilevare la presenza o l'assenza dell'enzima tartrato-resistente. In assenza di acido tartarico, quasi tutti i leucociti evidenziano sedi di attività granulare. Se incubati con tartrato, si può rilevare un granulo sporadico nei linfociti e in alcuni macrofagi.³ Negli strisci ematici, una reazione positiva è denotata dalla presenza di più di due cellule con attività diffusa e intensa, vale a dire oltre 40 granuli.³ Per valutare la colorazione di Golgi, caratteristica dei linfociti derivati dal timo (cellule T), si consiglia la procedura n. 181 di Sigma-Aldrich.

L'attività della fosfatasi acida appare sotto forma di granuli di colore dal tendente al porpora al rosso scuro presenti nel citoplasma della maggior parte dei leucociti.

Se i risultati osservati differiscono dai risultati attesi, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica di Sigma-Aldrich.

Caratteristiche di prestazione analitica

I risultati delle prestazioni analitiche per i test dati condotti su tutte le strutture target confermano una sensibilità, specificità e ripetibilità del 100%.

N. di cat.	Descrizione del prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
3861	Concentrato di citrato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3862	Soluzione di tartrato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3863	Soluzione di acetato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3864	Soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
38615	Sale Fast Garnet GBC	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
2852	Soluzione di ematossilina acida	Nuclei	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3

Avvertenze e pericoli

Per informazioni aggiornate su rischi, precauzioni e sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza e l'etichetta del prodotto.

386A:



- H290 Può essere corrosivo per i metalli.
- H312 Nocivo per contatto con la pelle.
- H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H331 Tossico se inalato.
- H350 Può provocare il cancro.
- H360 Può nuocere al feto.
- P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza.
- P234 Conservare soltanto nell'imballaggio originale.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
- P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua.
- P304 + P340 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Se durante l'utilizzo di questo dispositivo, o a seguito di questo, si è verificato un grave incidente, segnalarlo al fabbricante e/o al suo rappresentante autorizzato e alla propria autorità nazionale.

Definizioni dei simboli

Simboli da usare in conformità con la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabbricante		Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Codice del lotto
	Mandatario nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Mandatario in Svizzera		

Bibliografia

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962.
- Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978.
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119.

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Cronologia delle revisioni

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Eliminato riferimento bibliografico numero 4. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta informazione per Mandatario in Svizzera.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

L'iniziale "M" e Sigma-Aldrich sono marchi commerciali di Merck KGaA, Darmstadt, Germania o delle sue affiliate. Tutti gli altri marchi commerciali sono di proprietà dei rispettivi proprietari. Informazioni dettagliate sui marchi sono disponibili tramite risorse accessibili pubblicamente.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucciones de uso

Kit de fosfatasa ácida leucocitaria (TRAP)

Procedimiento n.º 386



Uso previsto

Los kits de fosfatasa ácida leucocitaria Sigma-Aldrich están pensados como tinción histológica de uso general en laboratorio. Los reactivos de fosfatasa ácida son exclusivamente para "uso diagnóstico in vitro" profesional. Este procedimiento manual, cualitativo e histoquímico detecta la actividad fosfatasa ácida en los leucocitos en sangre, en la médula ósea o en improntas de tejidos humanas. La visualización histológica de la fosfatasa ácida leucocitaria asociada representa una técnica única en la actualidad y es comúnmente utilizada en medicina.

El uso de fosfatos de naftol AS sustituidos junto con sales de diazonio para la detección de la fosfatasa ácida en los leucocitos humanos fue comunicado por primera vez por Goldberg y Barka.¹ El procedimiento de Sigma-Aldrich para la demostración de esta enzima leucocitaria se basa en el uso del fosfato de naftol AS-BI y la sal Fast Garnet GBC. Este último compuesto diazo se seleccionó porque se acopla rápidamente a pH ácido, formando depósitos de colorante muy insolubles. El ácido tartárico se proporciona para demostrar la presencia de la fosfatasa ácida, resistente al tartrato.

Según el procedimiento de Sigma-Aldrich, las láminas de sangre se incuban en una solución que contiene ácido fosfórico de naftol AS-BI y Fast Garnet GBC. Las láminas duplicadas son tratadas con sustrato que contiene L(+)-tartrato. El naftol AS-BI, liberado por hidrólisis enzimática, se acopla inmediatamente con el Fast Garnet GBC formando en los sitios de actividad depósitos insolubles de colorante granate. Las células que contienen fosfatasa ácida sensible al ácido tartárico carecen de actividad, mientras que las células mononucleares que contienen fosfatasa resistente al ácido tartárico no se ven afectadas por dicho tratamiento.

Reactivos

Concentrado de citrato (N.º de cat. 3861-20ML)
Solución amortiguadora de citrato, 0,38 mol/l, pH 5,4 cuando se diluye según el procedimiento

Solución de tartrato (N.º de cat. 3862-20ML)
Solución amortiguadora de L(+)-tartrato, 0,67 mol/l, pH 5,2 cuando se diluye según el procedimiento

Solución de acetato (N.º de cat. 3863-50ML)
Solución amortiguadora de acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2 cuando se diluye según el procedimiento

Naftol AS-BI, solución de ácido fosfórico (N.º de cat. 3864-40ML)
Ácido fosfórico naftol AS-BI, 12,5 mg/ml, en N,N-dimetilformamida. Peligro. Nocivo en contacto con la piel. Provoca irritación ocular grave. Nocivo si se inhala. Puede dañar al feto. Usar guantes/ropa de protección. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando.

Sal Fast Garnet GBC (N.º de cat. 38615-10CAP)
Sal Fast Garnet GBC, purificada, 15 mg/cápsula, C.I. 37210. Peligro. Puede provocar cáncer: Obtener instrucciones especiales de uso. EN CASO DE exposición demostrada o supuesta: Consultar a un médico.

Solución de hematoxilina ácida (N.º de cat. 2852-100ML)
Hematoxilina certificada, 1 g/l, C.I. 75290, yodato sódico, sulfato amónico de aluminio, y estabilizadores, pH 3,3 a 25 °C.

Material especial necesario pero no suministrado

- Acetona, reactivo ACS
- Baño de agua a 37 °C

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar el concentrado de citrato, la solución de tartrato y la solución de acetato en el frigorífico (2-8 °C). Desechar si presenta turbidez.

Almacenar la solución de ácido fosfórico de naftol AS-BI y sal Fast Garnet GBC en el frigorífico (2-8 °C). El color de la solución de ácido fosfórico de naftol AS-BI puede variar de amarillo pálido a amarillo oscuro. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las botellas.

Conservar la solución de hematoxilina ácida a temperatura ambiente (18-26 °C). Descartar cuando el tiempo de tinción adecuado supere en más de 5 minutos el tiempo recomendado en el procedimiento.

La solución de citrato diluida es adecuada para su uso en ausencia de crecimiento microbiano visible. La solución de citrato/acetona debe mantenerse bien tapada cuando no se utilice. Preparar solución nueva diariamente.

Preparación

La solución diluida de citrato se prepara añadiendo 2,0 ml de concentrado de citrato a 18,0 ml de agua.

La solución de citrato/acetona se prepara añadiendo 20,0 ml de solución de citrato diluida a 30,0 ml de acetona.

NOTA: Mantener la solución de citrato/acetona bien tapada cuando no se utilice. Preparar solución nueva diariamente.

Precauciones

Estos dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) están destinados a un uso de diagnóstico in vitro en un entorno de laboratorio clínico. Estos DMDIV están destinados a un uso profesional por parte de personal cualificado. El personal de laboratorio capacitado de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

Se deben seguir las precauciones normales ejercidas en el manejo de reactivos de laboratorio. Se deben eliminar los residuos respetando todas las normativas locales, estatales, regionales o nacionales.

Procedimiento

Recogida de la muestra

Ningún método de prueba conocido puede ofrecer total garantía de que las muestras de sangre o tejidos no transmitan infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre o muestras de tejido deben considerarse potencialmente infecciosos.

Se puede utilizar sangre, láminas de médula ósea, improntas citológicas de tejido y preparaciones para citocentrífuga. El EDTA o la heparina servirán como anticoagulantes. Las láminas de sangre o de médula ósea pueden almacenarse fijadas a temperatura ambiente (18-26 °C) durante varias semanas o sin fijar durante varios días sin que se produzcan cambios apreciables en la actividad.² No enviar sangre entera para su análisis en otros laboratorios. Enviar portaobjetos fijados o no fijados. Los portaobjetos deben mantenerse frescos durante el transporte. Dejar que las láminas se sequen al menos 1 hora antes de la fijación.

Notas

El rendimiento de la prueba puede controlarse incluyendo láminas de sangre preparadas a partir de una persona sana. En ausencia de ácido tartárico, todos los leucocitos muestran lugares de actividad granular. Cuando se incubaba con tartrato, puede observarse un gránulo ocasional en los linfocitos, pero todas las demás células que aparecen normalmente carecen de actividad.

Procedimiento

Fijación

1. Fijar el portaobjetos durante 30 segundos en solución de citrato-acetona a temperatura ambiente (18-26 °C).
2. Enjuagar los portaobjetos en agua desionizada y dejar secar al aire durante al menos 15 minutos.

Tinción

1. Rotular dos vasos de precipitados de 100 ml con A y B y añadir lo siguiente, mezclando después de cada adición:

	Vaso A	Vaso B
Agua, precalentada a 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Solución de acetato	2,0 ml	2,0 ml
Naftol AS-BI, ácido fosfórico	2,0 ml	2,0 ml
Solución de tartrato	—	2,0 ml

2. Añadir el contenido de 1 cápsula de sal Fast Garnet GBC a cada vaso de precipitados. Remover con la batidora magnética durante 30-60 segundos.
3. Filtrar rápidamente las soluciones a través del papel Whatman® n.º 54 (o equivalente) en frascos de tinción separados y etiquetados.
4. Calentar las soluciones en los frascos de tinción a 37 °C en un baño de agua. Comprobar que la temperatura está a 37 °C antes de añadir los portaobjetos.
5. Colocar al menos 2 láminas de sangre fijadas por duplicado en cada frasco que contenga la solución de sustrato filtrada.
6. Incubar los portaobjetos 1 hora a 37 °C en la oscuridad.
7. Retirar los portaobjetos y lavar en agua desionizada durante 3 minutos.
8. Teñir en solución de hematoxilina ácida durante 5 minutos.
9. Enjuagar los portaobjetos en agua desionizada durante 3 minutos y dejar secar al aire.
10. Evaluar microscópicamente utilizando un objetivo de inmersión en aceite (900X). No se recomienda el uso de medios de montaje con base de disolvente, ya que pueden provocar la decoloración de las manchas.

Características de funcionamiento

Por lo general, las láminas de sangre teñidas se evalúan subjetivamente para detectar la presencia o ausencia de enzima resistente al tartrato. En ausencia de ácido tartárico, la mayor parte de los leucocitos muestran lugares de actividad granular. Cuando se incubaba con tartrato, puede observarse un gránulo ocasional en los linfocitos y en algunos macrófagos especializados.³ En los frotis de sangre, una reacción positiva se denota por la presencia de más de dos células con actividad difusa e intensa, es decir, más de 40 gránulos.³ Para evaluar la tinción de Golgi, característica de los linfocitos derivados del timo (linfocitos T), se recomienda el procedimiento n.º 181 de Sigma-Aldrich.

La actividad de la fosfatasa ácida aparece como gránulos de color púrpura a rojo oscuro en el citoplasma de la mayoría de los leucocitos.

Si los resultados observados varían de los esperados, póngase en contacto con el Servicio técnico de Sigma-Aldrich.

Características de funcionamiento analítico

Los resultados del funcionamiento analítico de las pruebas realizadas en todas las estructuras objetivo confirman una sensibilidad, especificidad y repetibilidad del 100 %.

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
3861	Concentrado de citrato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3862	Solución de tartrato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3863	Solución de acetato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3864	Naftol AS-BI, solución de ácido fosfórico	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
38615	Sal Fast Garnet GBC	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2852	Solución de hematoxilina ácida	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

Consulte la ficha de seguridad y el etiquetado del producto para obtener información actualizada sobre riesgos, peligros o seguridad.

386A:



- H290 Puede ser corrosivo para los metales.
- H312 Nocivo en contacto con la piel.
- H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.
- H331 Tóxico en caso de inhalación.
- H350 Puede provocar cáncer.
- H360 Puede dañar al feto.
- P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.
- P234 Conservar únicamente en el embalaje original.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.
- P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando.

Si durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, infórmelo al fabricante o a su representante autorizado y a su autoridad nacional.

Definiciones de los símbolos

Símbolos definidos en la norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso		Código de lote
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea		Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro)
	Fecha de caducidad		Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Representante autorizado en Suiza		

Referencias

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en SigmaAldrich.com. Para solicitar el Servicio técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en SigmaAldrich.com/techservice.

Historial de revisiones

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023
Transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se ha eliminado el número de referencia 4. Se han añadido advertencias y peligros. Información del CH-REP añadida.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

La M inicial y Sigma-Aldrich son marcas comerciales registradas de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania o sus filiales. Todas las demás marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños. Puede consultarse la información detallada sobre las marcas comerciales en recursos accesibles al público.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Brugsanvisning

Sur fosfatase-sæt (TRAP) til leukocytter

Procedure nr. 386



Tilsigtet brug

Sigma-Aldrichs sur fosfatase-sæt er beregnet som en histologisk farvning til almindelig laboratoriebrug. Acid Phosphatase reagenser er udelukkende beregnet til professionel "in vitro-diagnostisk brug". Denne manuelle, kvalitative, histokemiske procedure påviser sur fosfatase-aktivitet i leukocytter i blod, knoglemarv eller vævsberøringspræparater fra mennesker. Histologisk visualisering af leukocyt-associeret sur fosfatase er en unik teknik, som aktuelt finder bred anvendelse på det medicinske område.

Brug af substituerede naphthol-AS-fosfater sammen med diazoniumsalte til påvisning af sur fosfatase i humane leukocytter blev først rapporteret af Goldberg og Barka.¹ Sigma-Aldrich-proceduren til påvisning af dette leukocytenzym er baseret på brug af naphthol-AS-BI-fosfat og Fast Garnet GBC-salt. Sidstnævnte diazoforbindelse blev valgt, fordi den kobler hurtigt ved sur pH og danner meget tungtopløselige farveaflejninger. Vinsyre leveres for at påvise tilstedeværelsen af tartrat-resistent sur fosfatase.

Ifølge Sigma-Aldrich-proceduren inkuberes blodfilm i en opløsning indeholdende naphthol-AS-BI-fosforsyre og Fast Garnet GBC. Duplikatfilm behandles med L(+) -tartratholdigt substrat. Naphthol-AS-BI, som frigives ved enzymatisk hydrolyse, kobles øjeblikkeligt med Fast Garnet GBC og danner uopløselige rødbrune farveaflejninger på aktivitetstederne. Cellen, der indeholder vinsyre-følsom sur fosfatase, er blottet for aktivitet, hvorimod de mononukleære celler, der indeholder vinsyre-resistent fosfatase, ikke påvirkes af en sådan behandling.

Reagenser

Citratkoncentrat (kat.nr. 3861-20ML)

Citratbuffer, 0,38 mol/l, pH 5,4 ved fortynding i henhold til proceduren.

Tartratopløsning (kat.nr. 3862-20ML)

L(+) -tartratbuffer, 0,67 mol/l, pH 5,2 ved fortynding i henhold til proceduren.

Acetatopløsning (kat.nr. 3863-50ML)

Acetatbuffer, 2,5 mol/l, pH 5,2 ved fortynding i henhold til proceduren.

Naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning (kat.nr. 3864-40ML)

Naphthol-AS-BI-fosforsyre, 12,5 mg/ml, i N,N'-dimethylformamid. Fare. Farlig ved hudkontakt. Forårsager alvorlig øjenirritation. Farlig ved indånding. Kan skade det ufødte barn. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj. VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Forsæt skylning.

Fast Garnet GBC-salt (kat.nr. 38615-10CAP)

Fast Garnet GBC-salt, rensat, 15 mg/kapsel, CI 37210. Fare. Kan fremkalde kræft: Indhent særlige anvisninger før brug. VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

Sur hæmatoxylinopløsning (kat.nr. 2852-100ML)

Hæmatoxylin, certificeret, 1 g/l, CI 75290, natriumiodat, aluminiumammoniumsulfat og stabilisatorer, pH 3,3 ved 25 °C.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Acetone, ACS-reagens
- 37 °C vandbad

Opbevaring og stabilitet

Opbevar citratkoncentrat, tartratopløsning og acetatopløsning i køleskab (2-8 °C). Skal bortskaffes, hvis der opstår uklarheder.

Opbevar Fast Garnet GBC-salt og naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning i køleskab (2-8 °C). Farven på naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning kan variere fra bleggul til mørkegul. Reagenserne er stabile indtil udløbsdatoen på flaskerne.

Opbevar sur hæmatoxylinopløsning ved stuetemperatur (18-26 °C). Skal kasseres, når tiden til passende farvning overstiger den anbefalede tid i proceduren med mere end 5 minutter.

Fortyndet citratopløsning er egnet til brug ved fravær af synlig mikrobiel vækst. Citrat-/acetoneopløsningen skal opbevares tæt lukket, når den ikke er i brug. Forbered en frisk opløsning dagligt.

Forberedelse

Fortyndet citratopløsning fremstilles ved at tilsætte 2,0 ml citratkoncentrat til 18,0 ml vand.

Citrat-/acetoneopløsningen fremstilles ved at tilsætte 20,0 ml fortyndet citratopløsning til 30,0 ml acetone.

BEMÆRK: Citrat-/acetoneopløsningen skal opbevares tæt lukket, når den ikke er i brug. Forbered en frisk opløsning dagligt.

Forsigtighedsregler

Disse IVD'er er beregnet til in vitro-diagnostisk brug i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD'er er udelukkende beregnet til professionel brug udført af kvalificeret personale. IVD'er fra Sigma-Aldrich kan benyttes af laboratoriepersonale, som er uddannet til at håndtere potentielt smittefarlige humane prøver, bruge mikroskoper og andet laboratorieudstyr og har en farveopfattelse og synsstyrke, som gør dem i stand til at skelne mellem farver og andre genstande under et mikroskop.

Normale forsigtighedsregler, der iagttages ved håndtering af laboratoriereagenser, skal følges. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale forskrifter.

Procedure

Prøveindsamling

Ingen kendt testmetode kan give fuldstændig sikkerhed for, at blodprøver eller væv ikke overfører smitte. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver betragtes som potentielt smittefarlige.

Der kan anvendes blod, knoglemarvsmembran, vævsberøringspræparater og cytocentrifugepræparater. Enten EDTA eller heparin vil fungere som antikoagulant. Blod- eller knoglemarvsmembran kan opbevares fikseret ved stuetemperatur (18-26 °C) i flere uger eller ufikseret i flere dage uden nævneværdig ændring i aktivitet.² Send ikke fuldblod til analyse i andre laboratorier. Send fikserede eller ufikserede objektglas. Objektglassene skal opbevares køligt under transport. Lad film tørre i mindst 1 time før fiksering.

Bemærkninger

Testens ydeevne kan overvåges ved at inkludere blodfilm, der er fremstillet ud fra en rask person. Ved fravær af vinsyre udviser alle leukocytter granulære aktivitetsteder. Når der inkuberes med tartrat, kan en lejlighedsvis granulum observeres i lymfocytter, men alle andre normalt forekommende celler er blottet for aktivitet.

Procedure

Fiksering

- Fikser objektglassene i citrat-/acetoneopløsning i 30 sekunder i ved stuetemperatur (18-26 °C).
- Skyl objektglassene i demineraliseret vand, og lad dem lufttørre i mindst 15 minutter.

Farvning

- Mærk to 100 ml-bægerglas A og B, og tilsæt følgende. Bland efter hver tilsætning:

	Bægerglas A	Bægerglas B
Vand, forvarmet til 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Acetatopløsning	2,0 ml	2,0 ml
Naphthol-AS-BI-fosforsyre	2,0 ml	2,0 ml
Tartratopløsning	—	2,0 ml

- Tilføj indholdet af 1 kapsel Fast Garnet GBC-salt til hvert bægerglas. Rør på en magnetblander i 30-60 sekunder.
- Filter opløsningerne hurtigt gennem Whatman® nr. 54 (eller tilsvarende) papir i separate, mærkede farvningskåle.
- Opvarm opløsningerne i farvningskåle til 37 °C i vandbad. Kontrollér, at temperaturen er på 37 °C, før objektglassene tilføjes.
- Anbring mindst 2 fikserede duplikatblodfilm i hver skål, der indeholder den filtrerede substratopløsning.
- Inkuber objektglassene 1 time ved 37 °C i mørke.
- Fjern objektglassene, og vask i demineraliseret vand i 3 minutter.
- Farv i sur hæmatoxylinopløsning i 5 minutter.
- Skyl objektglassene i demineraliseret i 3 minutter, og lad dem lufttørre.
- Evaluer mikroskopisk ved brug af en olieimmersionslinse (900X). Brug af opløsningsmiddelbaserede monteringsmedier frarådes, da de kan forårsage, at farvningen falmer.

Præstationskarakteristika

Farvede blodfilm evalueres sædvanligvis subjektivt for tilstedeværelse eller fravær af tartrat-resistent enzym. Ved fravær af vinsyre udviser de fleste leukocytter granulære aktivitetsteder. Når der inkuberes med tartrat, kan en lejlighedsvis granulum observeres i lymfocytter og visse specialiserede makrofager.³ I blodudstrygninger er en positiv reaktion angivet ved tilstedeværelsen af mere end to celler med diffus og intens aktivitet, dvs. mere end 40 granula.³ For at evaluere Golgi-farvning, der er karakteristisk for thymus-afledte lymfocytter (T-celler), anbefales Sigma-Aldrich-procedure nr. 181.

Sur fosfatase-aktivitet fremstår som lilla til mørkerøde granula i cytoplasmaet i de fleste leukocytter.

Kontakt Sigma-Aldrich teknisk service for at få assistance, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

Resultaterne for analyseydelsen for de givne tests, som blev udført på alle målstrukturer, bekræfter 100 % sensitivitet, specificitet og repeatabilitet.

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
3861	Citratkoncentrat	Aktivitetsteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3862	Tartratopløsning	Aktivitetsteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3863	Acetatopløsning	Aktivitetsteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3864	Naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning	Aktivitetsteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
38615	Fast Garnet GBC-salt	Aktivitetsteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
2852	Sur hæmatoxylinopløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende opdaterede risiko-, fare- eller sikkerhedsoplysninger.

386A:



- H290 Kan ætse metaller.
- H312 Farlig ved hudkontakt.
- H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.
- H331 Giftig ved indånding.
- H350 Kan fremkalde kræft.
- H360 Kan skade det ufødte barn.
- P202 Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.
- P234 Opbevares kun i originalemballagen.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P310 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.
- P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af dette produkt eller som følge af dets brug, skal det indberettes til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant og til den nationale myndighed i brugerens land.

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Katalognummer
	Se brugsanvisningen		Batchkode
	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/ Den Europæiske Union		Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato		Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver autoriseret repræsentant i Schweiz		

Referencer

- 1. Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- 2. Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- 3. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023
Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Fjernet reference nummer 4. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet information om repræsentant i Schweiz.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Forbogstavet M og Sigma-Aldrich er varemærker tilhørende Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland, eller deres tilknyttede virksomheder. Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere. Detaljerede oplysninger om varemærker kan indhentes via offentligt tilgængelige ressourcer.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Bruksanvisning

Leukocytsyrafosfatas-sats (TRAP)

Förfarande nr. 386



Avsedd användning

Sigma-Aldrich syrafosfatas-satser är avsedda som histologisk färgning för allmän laboratorieanvändning. Syrafosfatas-reagenser är endast avsedda för professionell "in vitro-diagnostisk användning". Syrafosfatas-reagenser är endast avsedda för professionell "in vitro-diagnostisk användning". Det här manuella, kvalitativa och histokemiska förfarandet påvisar syrafosfatas-aktivitet i leukocyter i mänskligt blod, benmärg och beröringspreparat för vävnader. Histologisk visualisering av leukocyt associerad med syrafosfatas är en unik teknik som för närvarande ofta används inom medicinska områden.

Användning av substituerade naftol-AS-fosfater i kombination med diazoniumsalter för detektion av surt fosfatas i leukocyter från mänskliga rapporterades först av Goldberg och Barka.¹ Sigma-Aldrich-förfarandet för att påvisa detta leukocytenzym är baserat på användning av naftol-AS-BI-fosfat och Fast Garnet GBC-salt. Den sistnämnda diazoföreningen valdes eftersom den kopplas snabbt vid surt pH och bildar mycket lösliga färgavlagringar. Vinsyra tillhandahålls för att påvisa närvaron av tartratresistent surt fosfatas.

Enligt Sigma-Aldrich-förfarandet inkuberas blodfilmer i en lösning som innehåller naftol-AS-BI-fosforsyra och Fast Garnet GBC. Duplikatfilmer behandlas med L(+) -tartrat-innehållande substrat. Naftol AS-BI, frisatt genom enzymatisk hydrolys, kopplas omedelbart till Fast Garnet GBC som bildas i lösliga rödbruna färgavlagringar vid aktivitetsställen. Celler som innehåller vinsyrakänsligt surt fosfatas saknar aktivitet, medan de mononukleära celler som innehåller vinsyresistent fosfatas inte påverkas av sådan behandling.

Reagenser

Citratkoncentrat (kat.-nr. 3861-20ML)
Citratbuffert, 0,38 mol/l, pH 5,4 vid utspädning enligt förfarande

Tartratlösning (kat.-nr. 3862-20ML)
L(+)-Tartratbuffert, 0,67 mol/l, pH 5,2 vid utspädning enligt förfarandet

Acetatlösning (kat.-nr. 3863-50ML)
Acetatbuffert, 2,5 mol/l, pH 5,2 vid utspädning enligt förfarande

Naftol-AS-BI-fosforsyralösning (kat.-nr. 3864-40ML)
Naftol-AS-BI-fosforsyra, 12,5 mg/ml, i N,N'-dimetylformamid. Fara. Skadligt vid kontakt med hud. Orsakar allvarlig ögonirritation. Skadligt vid inandning. Kan skada det ofödda barnet. Använd skyddshandskar/skyddskläder. OM LÖSNINGEN KOMMER IN I ÖGONEN: Skölj örsiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Fast Garnet GBC-salt (kat.-nr. 38615-10CAP)
Fast Garnet GBC-salt, renat, 15 mg/kapsel, CI 37210. Fara. Kan orsaka cancer: Skaffa speciella instruktioner för användning. VID eventuell exponering eller oro: Uppsök läkare.

Sur hematoxylinlösning (kat.-nr 2852-100ML)
Hematoxylin, certifierad, 1 g/l, C.I. 75290, natriumjodat, aluminiumammoniumsulfat, och stabiliseringsmedel, pH 3,3 vid 25 °C.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Aceton, ACS-reagens
- 37 °C vattenbad

Förvaring och hållbarhet

Förvara citratkoncentrat, tartratlösning och acetatlösning i kylskåp (2–8 °C). Kasseras om grumlighet uppstår.

Förvara Fast Garnet GBC-salt och naftol-AS-BI-fosforsyralösning i kylskåp (2–8 °C). Färgen på naftol-AS-BI-fosforsyralösning kan variera från blekgul till mörkgul. Reagenserna är stabila fram till utgångsdatumet som anges på flaskorna.

Förvara sur hematoxylinlösning i rumstemperatur (18–26 °C). Kassera när tiden för lämplig färgning överskrider den tid som rekommenderas i förfarandet med mer än fem minuter.

Utspädd citratlösning är lämplig för användning i frånvaro av mikrobiell tillväxt. Citrat-/acetatlösning ska förvaras tätt tillsluten när den inte används. Bered en ny lösning varje dag.

Beredning

Utspädd citratlösning framställs genom att tillsätta 2,0 ml citratkoncentrat till 18,0 ml vatten. Citrat-/acetatlösningen framställs genom att tillsätta 20,0 ml utspädd citratlösning till 30,0 ml aceton.

OBS! Förvara citrat-/acetatlösning tätt tillsluten när den inte används. Bered en ny lösning varje dag.

Försiktighetsåtgärder

Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är avsedda att användas i klinisk laboratoriemiljö. Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är endast avsedda att användas av kvalificerad personal. Medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik från Sigma-Aldrich får användas av laboratoriepersonal som är utbildad i hantering av humanprover som kan vara smittsamma, användning av mikroskop och annan laboratorieutrustning samt har tillräckligt bra förgående och synskärpa för att kunna urskilja färger och andra föremål under mikroskop.

Följ sedvanliga försiktighetsåtgärder vid hantering av laboratoriereagenser. Kassera avfall i enlighet med alla lokala, statliga, regionala och nationella bestämmelser.

Förfarande

Provtagning

Inga kända testmetoder kan erbjuda fullständig garanti för att inte smitta överförs genom blodprover eller vävnad. Därför måste alla blodderivat och vävnadsprover betraktas som potentiellt smittsamma.

Blod, benmärgsfilmer, beröringspreparat för vävnader och cytocentrifugpreparat kan användas. Antingen EDTA eller heparin fungerar som antikoagulantia. Blod- eller benmärgsfilmer kan förvaras fixerade i rumstemperatur (18–26°C) i flera veckor eller ofixerade i flera dagar utan nämnvärd förändring i aktivitet.² Skicka inte helblod för analys vid andra laboratorier. Skicka fixerade eller ofixerade objektglas. Objektglaset ska förvaras svalt under transporten. Låt filmerna torka minst 1 timme före fixering.

Anmärkningar

Testprestanda kan övervakas genom att inkludera blodfilmer framställda från en frisk individ. I frånvaro av vinsyra uppvisar alla leukocyter granulära aktivitetsställen. Vid inkubation med tartrat kan en enstaka granula observeras i lymfocyter, men alla andra normalt förekommande celler saknar aktivitet.

Förfarande

Fixering

1. Fixera objektglas i citrat-/acetatlösning i 30 sekunder i rumstemperatur (18–26 °C).
2. Skölj objektglaset i avjoniserat vatten och låt lufttorka i minst 15 minuter.

Färgning

1. Märk två 100 ml-bägare A och B och tillsätt följande, blanda efter varje tillsats:

	Bägare A	Bägare B
Vatten, förvämt till 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Acetatlösning	2,0 ml	2,0 ml
Naftol-AS-BI-fosforsyra	2,0 ml	2,0 ml
Tartratlösning	—	2,0 ml

2. Tillsätt innehållet i 1 kapsel Fast Garnet GBC-salt till varje bägare. Rör om på magnetomrörare 30–60 sekunder.
3. Filtrera snabbt lösningarna genom Whatman®-papper nr. 54 (eller motsvarande) till separata märkta färgningsburkar.
4. Värm lösningar i färgningsburkar till 37 °C i vattenbad. Kontrollera att temperaturen är 37 °C innan du lägger till objektglas.
5. Placera minst två duplicerade fixerade blodfilmer i varje burk som innehåller den filtrerade substratlösningen.
6. Inkubera objektglaset 1 timme vid 37 °C i mörker.
7. Ta bort objektglaset och tvätta i avjoniserat vatten i 3 minuter.
8. Färga i sur hematoxylinlösning i 5 minuter.
9. Skölj objektglaset i avjoniserat vatten i 3 minuter och låt lufttorka.
10. Utvärdera mikroskopiskt med oljeimmersionslins (900X). Användning av lösningsmedelsbaserade monteringsmedia rekommenderas inte eftersom de kan orsaka blekning av fläckarna.

Prestandaegenskaper

Färgade blodstryk utvärderas subjektivt med avseende på förekomst eller frånvaro av tartrat-resistent enzym. I frånvaro av vinsyra uppvisar de flesta leukocyter granulära aktivitetsställen. Vid inkubation med tartrat kan ett och annat granulär observeras i lymfocyter och vissa specialiserade makrofager.³ I blodutstryk betecknas en positiv reaktion med närvaron av fler än två celler med diffus och intensiv aktivitet, dvs. mer än 40 granulär.³ För att utvärdera Golgi-färgning, som är karakteristisk för tymusderiverade lymfocyter (T-celler), rekommenderas Sigma-Aldrichs förfarande nr 181.

Surt fosfataseaktivitet uppträder som lila till mörkröda granula i cytoplasman hos de flesta leukocyter.

Kontakta teknisk service på Sigma-Aldrich för hjälp ifall resultaten som observeras avviker från de förväntade resultaten.

Analytiska prestandaegenskaper

De analytiska prestandaresultaten för de givna testerna utförda på alla målstrukturer bekräftar 100 % sensitivitet, specificitet och repeterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3861	Citratkoncentrat	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3862	Tartratlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3863	Acetatlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3864	Naftol-AS-BI-fosforsyralösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
38615	Fast Garnet GBC-salt	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2852	Sur hematoxylin-lösning	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

Se säkerhetsdatabladet och produktmärkningen för uppdaterad information om risker, fara och säkerhet.

386A:



- H290 Kan vara frätande på metaller.
- H312 Farligt vid hudkontakt eller inandning.
- H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H331 Giftigt vid inandning.
- H350 Kan orsaka cancer.
- H360 Kan skada det ofödda barnet.
- P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förstås.
- P234 Förvara endast i originalförpackningen.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas utan problem. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

Om det har inträffat ett allvarligt tillbud medan denna enhet använts eller som ett resultat av att den har använts ska det rapporteras till tillverkaren och/eller dess auktoriserade representant samt myndigheten i ditt land.

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

	Tillverkare		Katalognummer
	Se bruksanvisningen		Batchkod
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/ Europeiska unionen		EU-försäkran om överensstämmelse (definieras i IVDR 2017/746)
	Utgångsdatum		Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten i Schweiz		

Referenser

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, sid. 28, 119

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på SigmaAldrich.com. För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats SigmaAldrich.com/techservice.

Revisionshistorik

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specifierat "För yrkesmässigt bruk" under "Avsedd användning" och under "Försiktighetsåtgärder". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för negativa händelser. Referens nummer 4 togs bort. Lagt till varningar och faror. Lagt till information om representant i Schweiz.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M och Sigma-Aldrich är varumärken som tillhör Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dess dotterbolag. Övriga varumärken tillhör respektive ägare. Detaljerad information om varumärken finns tillgänglig via allmänt tillgängliga resurser.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instruções de utilização

Kit de fosfatase ácida de leucócitos (TRAP)

Procedimento N.º 386



Utilização prevista

Os kits de fosfatase ácida da Sigma-Aldrich destinam-se a ser utilizados como corantes histológicos para uso geral em laboratório. Os reagentes de fosfatase ácida destinam-se somente a "Utilização para diagnóstico in vitro" por profissionais. Este procedimento histoquímico, qualitativo e manual, destina-se a demonstrar atividade de fosfatase ácida em leucócitos de sangue humano, películas de medula óssea e preparações por contacto de tecido. A visualização histológica da fosfatase ácida leucocitária é uma técnica única atualmente utilizada em medicina.

A utilização de fosfatos de naftol AS substituídos em conjunto com sais de diazónio na deteção de fosfatase ácida em leucócitos humanos foi relatada pela primeira vez por Goldberg e Barka.¹ O procedimento da Sigma-Aldrich para demonstrar esta enzima leucocitária baseia-se na utilização de Fosfato de Naftol AS-BI e Sal de Granada rápida GBC. O último composto diazótico foi selecionado porque se acopla rapidamente a pH ácido, formando depósitos de corantes altamente insolúveis. O ácido tartárico é fornecido para demonstrar a presença de fosfatase ácida resistente ao tartarato.

De acordo com o procedimento da Sigma-Aldrich, as películas de sangue são incubadas numa solução contendo Ácido fosfórico de naftol AS-BI e Granada rápida GBC. As películas duplicadas são tratadas com substrato contendo L(+) tartarato. O Naftol AS-BI, libertado por hidrólise enzimática, acopla-se imediatamente à Granada rápida GBC formando depósitos insolúveis de corante castanho nos locais de atividade. As células que contêm fosfatase ácida sensível ao ácido tartárico são desprovidas de atividade, ao passo que as células mononucleares que contêm fosfatase resistente ao ácido tartárico não são afetadas por tal tratamento.

Reagentes

Solução de Citrato (N.º de cat. 3861-20ML)

Tampão de Citrato, 0,38 mol/l, pH 5,4 quando diluído de acordo com o procedimento

Solução de Tartarato (N.º de cat. 3862-20ML)

Tampão de L(+) tartarato, 0,67 mol/l, pH 5,2 quando diluído de acordo com o procedimento

Solução de Acetato (N.º de cat. 3863-50ML)

Tampão de Acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2 quando diluído de acordo com o procedimento

Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI (N.º de cat. 3864-40ML)

Ácido fosfórico de naftol AS-BI, 12,5 mg/ml, em N,N'-Dimetilformamida. Perigo. Nocivo em contacto com a pele. Provoca irritação ocular grave. Nocivo por inalação. Pode afetar o nascituro. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Sal de Granada rápida GBC (N.º de cat. 38615-10CAP)

Sal de Granada rápida GBC, purificado, 15 mg/cápsula, C.I. 37210. Perigo. Pode causar cancro: Obter instruções de utilização especiais. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consultar um médico.

Solução de Hematoxilina ácida (N.º de cat. 2852-100ML)

Hematoxilina, certificada, 1 g/l, C.I. 75290, iodato de sódio, sulfato de alumínio e amónio e estabilizadores, pH 3,3 a 25 °C.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Acetona, Reagente ACS
- Banho-maria a 37 °C

Conservação e estabilidade

Conservar o Concentrado de Citrato, a Solução de Tartarato e a Solução de Acetato no frigorífico (2-8 °C). Eliminar se surgir turbidez.

Armazenar o Sal de Granada rápida GBC e a Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI no frigorífico (2-8 °C). A cor da Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI pode variar de amarelo claro a amarelo escuro. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada nos frascos.

Conservar a Solução de Hematoxilina ácida à temperatura ambiente (18-26 °C). Eliminar quando o tempo para obter uma coloração adequada exceder o tempo recomendado no procedimento em mais de 5 minutos.

A Solução diluidora de Citrato é adequada para uso na ausência de crescimento microbiano. A Solução de Citrato/Acetona deve ser mantida firmemente tapada quando não estiver em uso. Preparar a solução de fresco diariamente.

Preparação

A Solução de Citrato diluída é preparada adicionando 2,0 ml de Concentrado de Citrato a 18,0 ml de água.

A Solução de Citrato/Acetona é preparada adicionando 20,0 ml de Solução diluidora de Citrato a 30,0 ml de Acetona.

NOTA: Manter a Solução de Citrato/Acetona firmemente tapada quando não estiver em uso. Preparar a solução de fresco diariamente.

Precauções

Estes DIV destinam-se a utilização para diagnóstico in vitro num ambiente de laboratório clínico. Estes DIV destinam-se apenas a utilização profissional por pessoal qualificado. Os DIV da Sigma-Aldrich podem ser utilizados por técnicos de laboratório com formação no manuseamento de amostras humanas potencialmente infecciosas e na utilização de microscópios e outros equipamentos laboratoriais e com perceção cromática e acuidade visual para distinguir cores e outros objetos ao microscópio.

Devem seguir-se as precauções normais no manuseamento de reagentes laboratoriais. Eliminar os resíduos cumprindo todos os regulamentos locais, estatais, municipais ou nacionais.

Procedimento

Colheita de amostras

Nenhum método de testagem conhecido pode oferecer uma garantia total de que as amostras sanguíneas ou tecido não transmitirão infeções. Por conseguinte, todos os derivados de sangue ou amostras de tecido devem ser considerados potencialmente infecciosos.

É possível utilizar sangue, películas de medula óssea, preparações por contacto de tecido e citocentrífuga. A EDTA ou a heparina atuarão como anticoagulantes. As películas de sangue ou medula óssea podem ser conservadas fixadas à temperatura ambiente (18-26 °C) durante várias semanas ou não fixadas durante vários dias sem alteração apreciável da atividade.² Não expedir sangue total para ensaio noutros laboratórios. Enviar lâminas fixadas ou não fixadas. As lâminas devem ser mantidos refrigeradas em trânsito. Permitir que as películas sequem durante, pelo menos, 1 hora antes da fixação.

Notas

O desempenho do teste pode ser monitorizado incluindo películas de sangue preparadas a partir de um indivíduo saudável. Na ausência de ácido tartárico, todos os leucócitos demonstram locais de atividade granulares. Quando incubado com tartarato, poderá observar um grânulo ocasional nos linfócitos, mas todas as demais células que ocorram normalmente são desprovidas de atividade.

Procedimento

Fixação

1. Fixar a lâmina na Solução de Citrato/Acetona durante 30 segundos à temperatura ambiente (18-26 °C).
2. Enxaguar as lâminas em água desionizada e deixar secar ao ar durante, pelo menos, 15 minutos.

Coloração

1. Rotular dois copos A e B de 100 ml e adicionar o seguinte, misturando após cada adição:

	Copo A	Copo B
Água, pré-aquecida até 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Solução de Acetato	2,0 ml	2,0 ml
Ácido fosfórico de naftol AS-BI	2,0 ml	2,0 ml
Solução de Tartarato	—	2,0 ml

2. Adicionar o conteúdo de 1 cápsula de Sal de Granada rápida GBC a cada copo. Agitar no agitador magnético durante 30-60 segundos.
3. Filtrar rapidamente soluções através de papel de Whatman® N.º 54 (ou equivalente) em jarras de coloração rotuladas em separado.
4. Num banho-maria, aquecer as soluções em jarras de coloração a uma temperatura de 37 °C. Verificar se a temperatura está a 37 °C antes de adicionar as lâminas.
5. Colocar, pelo menos, 2 películas de sangue duplicadas e fixadas em cada jarra contendo a solução de substrato filtrada.
6. Incubar as lâminas durante 1 hora a 37 °C no escuro.
7. Remover as lâminas e lavar com água desionizada durante 3 minutos.
8. Corar em Solução de Hematoxilina ácida durante 5 minutos.
9. Enxaguar as lâminas em água desionizada durante 3 minutos e deixar secar ao ar.
10. Avaliar microscopicamente usando uma lente de imersão em óleo (900X). Não se recomenda a utilização de suportes de montagem à base de solventes, visto que podem causar o desvanecimento das manchas.

Características do desempenho

Normalmente, as películas de sangue coradas são avaliadas subjetivamente quanto à presença ou ausência de enzimas resistentes a tartarato. Na ausência de ácido tartárico, a maioria dos leucócitos demonstra locais de atividade granulares. Quando incubado com tartarato, poderá observar um grânulo ocasional em linfócitos e alguns macrófagos especializados.³ Nos esfregaços de sangue, uma reação positiva é denotada pela presença de mais de duas células com atividade difusa e intensa, ou seja, mais de 40 grânulos.³ Para avaliar a coloração de Golgi, característica dos linfócitos derivados do timo (células T), recomenda-se o Procedimento N.º 181 da Sigma-Aldrich.

A atividade da fosfatase ácida aparece sob a forma de grânulos roxos a vermelhos escuros no citoplasma da maioria dos leucócitos.

Se os resultados observados variarem dos resultados previstos, contacte a Assistência técnica da Sigma-Aldrich para obter ajuda.

Características do desempenho analítico

Os resultados do desempenho analítico para os testes indicados realizados em todas as estruturas alvo, confirmam uma sensibilidade de 100%, especificidade e repetibilidade.

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
3861	Concentrado de Citrato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3862	Solução de Tartarato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3863	Solução de Acetato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3864	Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
38615	Sal de Granada rápida GBC	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2852	Solução de Hematoxilina ácida	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

Consulte a Folha de Dados de Segurança e a rotulagem do produto para obter informações atualizadas sobre riscos, perigos ou segurança.

386A:



- H290 Pode ser corrosivo para os metais.
- H312 Nocivo em contacto com a pele.
- H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- H331 Tóxico por inalação.
- H350 Pode provocar cancro.
- H360 Pode afetar o nascituro.
- P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
- P234 Mantenha sempre o produto na sua embalagem original.
- P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.
- P304 + P340 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

Caso tenha ocorrido algum incidente grave durante a utilização deste dispositivo ou como resultado da sua utilização, comunique-o ao fabricante e/ou ao respetivo representante autorizado e à sua autoridade nacional.

Definições dos símbolos

Símbolos conforme definidos na norma EN ISO 15223-1:2021

	Fabricante		Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização		Código do lote
	Representante autorizado na Comunidade Europeia/ União Europeia		Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva RDIV 2017/746)
	Data de validade		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador
	Indica o Representante Autorizado na Suíça		

Referências

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em SigmaAldrich.com. Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site SigmaAldrich.com/techservice.

Histórico de revisões

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023
Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Remoção da referência número 4. Adição de Advertências e Perigos. Adicionadas informações CH-REP.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

O M inicial e Sigma-Aldrich são marcas comerciais da Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha ou das respetivas afiliadas. Todas as outras marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários. Estão disponíveis informações detalhadas sobre marcas comerciais através de recursos acessíveis ao público.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Οδηγίες χρήσης

Κιτ όξινης φωσφατάσης λευκοκυττάρων (TRAP)

Διαδικασία αρ. 386



Προοριζόμενη χρήση

Τα κιτ όξινης φωσφατάσης της Sigma-Aldrich προορίζονται ως ιστολογική χρώση γενικής εργαστηριακής χρήσης. Τα αντιδραστήρια όξινης φωσφατάσης προορίζονται μόνο για επαγγελματική «in vitro διαγνωστική χρήση». Αυτή η μη αυτόματη, ποιοτική, ιστοχημική διαδικασία αναγνωρίζει τη δραστηριότητα της όξινης φωσφατάσης στα λευκοκύτταρα ανθρώπινου αίματος, μυελού των οστών και παρασκευασμάτων ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας. Η ιστολογική οπτικοποίηση της σχετιζόμενης με τα λευκοκύτταρα όξινης φωσφατάσης είναι μια μοναδική τεχνική που επί του παρόντος χρησιμοποιείται ευρέως στην ιατρική.

Η χρήση υποκατεστημένων φωσφορικών naphthol AS σε συνδυασμό με άλατα διαζωνίου για την ανίχνευση της όξινης φωσφατάσης σε ανθρώπινα λευκοκύτταρα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Goldberg και Barka.¹ Η διαδικασία της Sigma-Aldrich για την αναγνώριση αυτού του ενζύμου λευκοκυττάρων βασίζεται στη χρήση naphthol AS-BI phosphate και άλατος fast garnet GBC. Αυτή η διαζωνιακή ένωση επιλέχθηκε επειδή πραγματοποιεί γρήγορα σύζευξη σε όξινο pH, σχηματίζοντας εξαιρετικά αδιάλυτες εναποθέσεις χρωστικής. Το τρυγικό οξύ παρέχεται για να αναγνωρισθεί η παρουσία ανθεκτικής στο τρυγικό οξύ όξινης φωσφατάσης.

Σύμφωνα με τη διαδικασία της Sigma-Aldrich, τα φιλμ αίματος επωάζονται σε διάλυμα που περιέχει naphthol AS-BI φωσφορικό οξύ και fast garnet GBC. Τα διπλότυπα φιλμ υποβάλλονται σε επεξεργασία με υπόστρωμα L(+) τρυγικό οξύ. Το naphthol AS-BI, που απελευθερώνεται με ενζυματική υδρόλυση, πραγματοποιεί αμέσως σύζευξη με το fast garnet GBC, σχηματίζοντας αδιάλυτες εναποθέσεις καστανής χρωστικής στα σημεία δραστηριότητας. Τα κύτταρα που περιέχουν ευαίσθητη στο τρυγικό οξύ όξινη φωσφατάση στερούνται δραστηριότητας, ενώ τα μονοκύτταρα κύτταρα που περιέχουν ανθεκτική στο τρυγικό οξύ φωσφατάση δεν επηρεάζονται από την εν λόγω επεξεργασία.

Αντιδραστήρια

Συμπύκνωμα κιτρικού οξέος (Αρ. καταλόγου 3861-20ML)

Ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών, 0,38 mol/L, pH 5,4 όταν αραιώνεται σύμφωνα με τη διαδικασία

Τρυγικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 3862-20ML)

L(+) ρυθμιστικό διάλυμα τρυγικού οξέος, 0,67 mol/L, pH 5,2 όταν αραιώνεται σύμφωνα με τη διαδικασία

Οξικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 3863-50ML)

Οξικό ρυθμιστικό διάλυμα, 2,5 mol/L, pH 5,2 όταν αραιώνεται σύμφωνα με τη διαδικασία

Διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος (Αρ. καταλόγου 3864-40ML)

Naphthol AS-BI φωσφορικό οξύ, 12,5 mg/mL, σε N,N'-διμεθυλοφωρμαμίδιο. Κίνδυνος. Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Επιβλαβές σε περίπτωση εισπνοής. Μπορεί να βλάψει το έμβρυο. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Άλας fast garnet GBC (Αρ. καταλόγου 38615-10CAP)

Άλας fast garnet GBC, καθαρομένο, 15 mg/καψάκιο, C.I. 37210. Κίνδυνος. Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο: Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

Όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης (Αρ. καταλόγου 2852-100ML)

Αιματοξυλίνη, πιστοποιημένη, 1 g/L, C.I. 75290, ιωδικό νάτριο, θειικό αργίλιο αμμωνίου, και σταθεροποιητές, pH 3,3 στους 25 °C.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Ακετόνη, αντιδραστήριο ACS
- Υδατόλουτρο στους 37 °C

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το συμπύκνωμα κιτρικού οξέος, το τρυγικό διάλυμα και το οξικό διάλυμα στο ψυγείο (2–8 °C). Απορρίψτε εάν αναπτυχθεί θολερότητα.

Φυλάσσετε το άλας Fast Garnet GBC και το διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος στο ψυγείο (2–8 °C). Το χρώμα του διαλύματος Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος μπορεί να ποικίλλει από ανοιχτό έως σκούρο κίτρινο. Τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που εμφανίζεται στις φιάλες.

Φυλάσσετε το όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Απορρίψτε όταν ο χρόνος που απαιτείται για την κατάλληλη χρώση υπερβαίνει τον συνιστώμενο χρόνο της διαδικασίας κατά περισσότερα από 5 λεπτά.

Το αραιωμένο κιτρικό διάλυμα είναι κατάλληλο για χρήση απουσία ορατής μικροβιακής ανάπτυξης. Το διάλυμα κιτρικού/ακετόνης πρέπει να φυλάσσεται με το καπάκι ερμητικά κλειστό όταν δεν χρησιμοποιείται. Παρασκευάζετε φρέσκο καθημερινά.

Παρασκευή

Το αραιωμένο κιτρικό διάλυμα παρασκευάζεται προσθέτοντας 2,0 mL συμπυκνώματος κιτρικού οξέος σε 18,0 mL νερού.

Το διάλυμα κιτρικού/ακετόνης παρασκευάζεται προσθέτοντας 20,0 mL αραιού κιτρικού διαλύματος σε 30,0 mL ακετόνης.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Φυλάσσετε το διάλυμα κιτρικού/ακετόνης με το καπάκι ερμητικά κλειστό όταν δεν χρησιμοποιείται. Παρασκευάζετε φρέσκο καθημερινά.

Προφυλάξεις

Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για in vitro διαγνωστική χρήση σε περιβάλλον κλινικού εργαστηρίου. Αυτά τα βοηθήματα IVD προορίζονται για επαγγελματική χρήση μόνο από εξειδικευμένο προσωπικό. Τα βοηθήματα IVD της Sigma-Aldrich μπορούν να χρησιμοποιούνται από εργαστηριακό προσωπικό το οποίο είναι εκπαιδευμένο να χειρίζεται ανθρώπινα δείγματα που μπορεί να είναι μολυσματικά, να χρησιμοποιεί μικροσκόπια και άλλον εργαστηριακό εξοπλισμό και διαθέτει αντίληψη των χρωμάτων και οπτική οξύτητα για να διακρίνει τα χρώματα και άλλα αντικείμενα κάτω από το μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνθήκες προφυλάξεων κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τήρωντας όλους τους τοπικούς, πολιτικούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμασίας δεν μπορεί να προσφέρει πλήρη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν θα μεταδώσουν λοίμωξη. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή τα δείγματα ιστού θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά μολυσματικά.

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φιλμ αίματος, μυελού των οστών, παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας και παρασκευάσματα κυτταρο-φυγοκέντρωσης. Είτε το EDTA είτε η ηπαρίνη θα χρησιμοποιηθούν ως αντιπηκτικά. Τα φιλμ αίματος ή μυελού των οστών μπορούν να φυλαχθούν μονιμοποιημένα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C) για αρκετές εβδομάδες ή μη μονιμοποιημένα για αρκετές ημέρες χωρίς αισθητή αλλαγή στη δραστηριότητα.² Μην αποστέλλετε πλήρες αίμα για ανάλυση σε άλλα εργαστήρια. Αποστέλλετε μονιμοποιημένες ή μη μονιμοποιημένες αντικειμενοφόρους. Οι αντικειμενοφόροι πρέπει να διατηρούνται δροσερές κατά τη μεταφορά. Αφήστε τα φιλμ να στεγνώσουν τουλάχιστον 1 ώρα πριν από τη μονιμοποίηση.

Σημειώσεις

Η απόδοση της δοκιμασίας μπορεί να ελεγχθεί συμπεριλαμβάνοντας φιλμ αίματος που έχουν παρασκευαστεί από ένα υγιές άτομο. Απουσία τρυγικού οξέος, όλα τα λευκοκύτταρα εμφανίζουν κοκκώδη σημεία δραστηριότητας. Όταν επωάζονται με τρυγικό διάλυμα, μπορεί να παρατηρηθεί περιστασιακό κοκκίο στα λεμφοκύτταρα, αλλά όλα τα άλλα κύτταρα που απαντώνται φυσιολογικά στερούνται δραστηριότητας.

Διαδικασία

Μονιμοποίηση

1. Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους για 30 δευτερόλεπτα σε διάλυμα κιτρικού/ακετόνης σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C).
2. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε αποιονισμένο νερό και αφήστε τις να στεγνώσουν στον αέρα για τουλάχιστον 15 λεπτά.

Χρώση

1. Επιστημάνετε ως Α και Β δύο ποτήρια των 100 mL και προσθέστε τα ακόλουθα, αναμειγνύοντας μετά από κάθε προσθήκη:

	Ποτήρι Α	Ποτήρι Β
Νερό, προθερμασμένο στους 37 °C	46,0 mL	44,0 mL
Οξικό διάλυμα	2,0 mL	2,0 mL
Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος	2,0 mL	2,0 mL
Τρυγικό διάλυμα	–	2,0 mL

2. Προσθέστε το περιεχόμενο 1 καψακίου άλατος Fast Garnet GBC σε κάθε ποτήρι. Ανακατέψτε σε μαγνητικό αναδευτήρα για 30–60 δευτερόλεπτα.
3. Διηθήστε γρήγορα τα διαλύματα μέσω χαρτιού Whatman® No. 54 (ή ισοδύναμου) σε χωριστά δοχεία χρώσης με επικέτα.
4. Θερμάνετε τα διαλύματα σε δοχεία χρώσης στους 37 °C σε υδατόλουτρο. Ελέγξτε ότι η θερμοκρασία είναι στους 37 °C προτού προσθέσετε αντικειμενοφόρους.
5. Τοποθετήστε τουλάχιστον 2 διπλότυπα μονιμοποιημένα φιλμ αίματος σε κάθε δοχείο που περιέχει το φιλτραρισμένο διάλυμα υποστρώματος.
6. Επωάστε τις αντικειμενοφόρους για 1 ώρα στους 37 °C στο σκοτάδι.
7. Αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους και πλύνετε τις σε αποιονισμένο νερό για 3 λεπτά.
8. Χρωμάτιστε σε όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης για 5 λεπτά.
9. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε αποιονισμένο νερό για 3 λεπτά και αφήστε τις να στεγνώσουν στον αέρα.
10. Αξιολογήστε μικροσκοπικά χρησιμοποιώντας φακό εμφάνισης σε λάδι (900X). Δεν συνιστάται η χρήση μέσων κάλυψης με βάση διαλύτες, καθώς μπορεί να προκαλέσουν ξεθώριασμα των χρωστών.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Τα χρωματισμένα φιλμ αίματος συνήθως αξιολογούνται υποκειμενικά ως προς την παρουσία ή την απουσία ενζύμου ανθεκτικού στο τρυγικό οξύ. Απουσία τρυγικού οξέος, τα περισσότερα λευκοκύτταρα εμφανίζουν κοκκώδη σημεία δραστηριότητας. Όταν επωάζονται με τρυγικό διάλυμα, μπορεί να παρατηρηθεί περιστασιακό κοκκίο σε λεμφοκύτταρα και ορισμένα εξειδικευμένα μακροφάγα.³ Σε επιχρίσματα αίματος, μια θετική αντίδραση υποδηλώνεται από την παρουσία περισσότερων από δύο κυττάρων με διάχυτη και έντονη δραστηριότητα, δηλαδή περισσότερα από 40 κοκκία.³ Για την αξιολόγηση της χρώσης Golgi, χαρακτηριστική των λεμφοκυττάρων που προέρχονται από τον θύμο (T-κύτταρα), συνιστάται η διαδικασία Sigma-Aldrich αρ. 181.

Η δραστηριότητα της όξινης φωσφατάσης εμφανίζεται με τη μορφή πορφύρων έως σκούρων κόκκινων κοκκίων στο κυτταρόπλασμα των περισσότερων λευκοκυττάρων.

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

Τα αποτελέσματα απόδοσης της ανάλυσης για τις δεδομένες δοκιμασίες που πραγματοποιήθηκαν σε όλες τις στοχευόμενες δομές, επιβεβαιώνουν την ευαισθησία, την ειδικότητα και την επαναληψιμότητα σε ποσοστό 100%.

Αρ. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
3861	Συμπύκνωμα κιτρικού οξέος	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3862	Τρυγικό διάλυμα	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3863	Οξικό διάλυμα	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3864	Διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Αρ. κατα-λόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
38615	Άλας Fast Garnet GBC	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
2852	Όξινο διάλυμα αιματοεουλίνης	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

Ανατρέξτε στο Δελτίο δεδομένων ασφαλείας και στην επισήμανση προϊόντος για οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

386A:



H290 Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H312 Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα.

H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.

H331 Τοξικό σε περίπτωση εισπνοής.

H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

H360 Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

P202 Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.

P234 Να διατηρείται μόνο στην αρχική συσκευασία.

P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

P303 + P361 + P353 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.

P304 + P340 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P305 + P351 + P338 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

Εάν, κατά τη διάρκεια της χρήσης αυτού του βοηθήματος ή ως αποτέλεσμα της χρήσης του, έχει συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό, παρακαλείστε να το αναφέρετε στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στην εθνική αρχή της χώρας σας.

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

	Κατασκευαστής		Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Αριθμός παρτίδας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση		Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης		In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας
	Υποδεικνύει τον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, παρακαλούμε επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 2.0	2014	
Αναθ. 3.0	2016	
Αναθ. 4.0	2023	Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανειδίκευτα συμβάντα. Αφαιρέθηκε η βιβλιογραφική αναφορά 4. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν πληροφορίες εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου για την Ελβετία (CH-REP).



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Το αρχικό γράμμα M και το Sigma-Aldrich είναι εμπορικά σήματα της Merck KGaA, Darmstadt, Germany ή των συνδεδεμένων με αυτήν εταιρειών. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων. Λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τα εμπορικά σήματα είναι διαθέσιμες μέσω δημοσίων προσβάσιμων πόρων.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Használati utasítás

Leukocita savas foszfataz (TRAP) készlet

386. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A Sigma-Aldrich savas foszfataz készlet általános laboratóriumi felhasználásra szánt szövettani festék. A savas foszfataz reagensek kizárólag professzionális „*in vitro*” diagnosztikai felhasználásra szolgálnak. Ez a manuális, kvalitatív hisztokémiai eljárás kimutatja a savasfoszfataz-aktivitást az emberi vér-, csontvelő- és szövetlenyomat-preparátumokban lévő leukocitákban. A leukocitákhoz kapcsolódó savas foszfataz szövettani megjelenítése egy egyedülálló, az orvostudományban jelenleg általánosan használt technika.

A szubsztituált naftol-AS-foszfatok diazóniumsókkal együtt, a savas foszfataz humán leukocitákban történő kimutatására szolgáló alkalmazásáról elsőként Goldberg és Barka számoltak be.¹ A Sigma-Aldrich ezen leukocitaenzim kimutatására szolgáló eljárása a naftol-AS-BI-foszfát és a Fast Garnet GBC só használatán alapul. Ezen utóbbi diazovegyületet azért választották, mert savas kémhatás esetén gyorsan kötődik, és kifejezetten oldhatatlan festéklarakódást képez. A borkósav a tartarátrezisztens savas foszfataz jelenlétének igazolására használandó.

A Sigma-Aldrich eljárása alapján a vérkeneteket naftol-AS-BI-foszforsavat és Fast Garnet GBC-t tartalmazó oldatban inkubálják. A két példányban készült keneteket L(+)–tartarátot tartalmazó szubsztráttal kezelik. Az enzimatisz hidrolízis során felszabaduló naftol-AS-BI azonnal a Fast Garnet GBC-hez kötődik, és oldhatatlan barna festéklarakódásokat alkot az aktivitás helyén. A borkósavra érzékeny savas foszfatazt tartalmazó sejtek aktivitása megszűnik, míg a borkósavra rezisztens foszfatazt tartalmazó mononukleáris sejteket ez a kezelés nem érinti.

Reagensek

Citrátkoncentrátum (kat. sz.: 3861-20ML)

Citrátpuffer, 0,38 mol/l, pH-érték az eljárásnak megfelelő hígítás esetén 5,4

Tartarátoldat (kat. sz.: 3862-20ML)

L(+)–tartarát puffer, 0,67 mol/l, pH-érték az eljárásnak megfelelő hígítás esetén 5,2

Acetátoldat (kat. sz.: 3863-50ML)

Acetátpuffer, 2,5 mol/l, pH-érték az eljárásnak megfelelő hígítás esetén 5,2

Naftol-AS-BI-foszforsav oldat (kat. sz.: 3864-40ML)

Naftol-AS-BI-foszforsav, 12,5 mg/ml, N,N’-dimetil-formamidban. Veszély. Bőrrel érintkezve ártalmas. Súlyos szemirritációt okoz. Belélegezve ártalmas. Károsíthatja a születendő gyermeket. Védőkesztyű/védőruha használata kötelező. SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Fast Garnet GBC só (kat. sz.: 38615-10CAP)

Fast Garnet GBC só, tisztított, 15 mg/kapszula, C.I. 37210. Veszély. Rákot okozhat: Ismerje meg a különleges utasításokat. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni.

Savas hematoxinoldat (kat. sz.: 2852-100ML)

Tanúsított hematoxin, 1 g/l, C.I. 75290; nátrium-jodát; alumínium-ammónium-szulfát és stabilizálószer, 25 °C-on a pH-érték 3,3.

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Aceton, ACS-reagensminőség
- 37 °C-os vízfürdő

Tárolás és stabilitás

A citrátkoncentrátumot, a tartarátoldatot és az acetátoldatot hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni. Ha zavarossá válnak, dobja ki az oldatokat.

A Fast Garnet GBC só és a naftol-AS-BI-foszforsav oldat hűtőszekrényben (2–8 °C) tárolandó.

A naftol-AS-BI-foszforsav oldat színe halványárgától sötétsárgáig változhat. A reagensek az üvegen feltüntetett lejárati dátumig stabilak.

A savas hematoxinoldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. Dobja ki, ha a megfelelő festési idő több mint 5 perccel meghaladja az eljárás során ajánlott időt.

A híg citrátdoldat látható mikrobiális növekedés hiányában használható. Használaton kívül a citrát-acetát-oldatot szorosan lezárva kell tárolni. Naponta frissen készítenéd.

Előkészítés

Készítse el a híg citrátdoldatot 2,0 ml citrátkoncentrátum 18,0 ml vízhez történő hozzáadásával.

A citrát-aceton oldat 20,0 ml híg citrátdoldat 30,0 ml acetonhoz való hozzáadásával készíthető el.

MEGJEGYZÉS: Használaton kívül tárolja a citrát-aceton oldatot szorosan lezárva. Naponta frissen készítenéd.

Óvintézkedések

Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket klinikai laboratóriumi környezetben történő *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szánták. Ezeket az *in vitro* diagnosztikai eszközöket csak képzett szakemberek használhatják. A Sigma-Aldrich *in vitro* diagnosztikai eszközöket olyan laboratóriumi személyzet üzemeltetheti, akik képzettek az esetlegesen fertőző emberi minták kezelésére, mikroszkópok és egyéb laboratóriumi berendezések használatában, valamint kellő színerzékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagensek kezelése során a szokásos óvintézkedéseket kell követni. A hulladékot a helyi, állami, tartományi vagy nemzeti előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

Eljárás

Mintavétel

Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújt teljes bizonyosságot arra nézve, hogy a vérminták vagy szövetek nem továbbítanak fertőzést. Ezért minden vérkészítményt vagy szövetmintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni.

Vér-, csontvelőkenet, szövetlenyomat-preparátumok és sejtcentrifugálással nyert minták használandók. Antikoagulánsként EDTA vagy heparin alkalmazható. A vér- vagy csontvelőkenet fixálva szobahőmérsékleten (18–26 °C) több hétig, vagy fixálás nélkül több napig tárolhatók észrevehető aktivitásváltozás nélkül.² Ne szállítson teljes vért más laboratóriumokba vizsgálatra. Fixált vagy nem fixált tárgylemezeket is küldhet. A tárgylemezeket szállítás közben hidegen kell tartani. A keneteket a fixálás előtt legalább 1 óráig hagyja száradni.

Megjegyzések

A teszt teljesítményét egészséges személytől származó vérkenetek segítségével lehet nyomon követni. Borkósav hiányában minden leukocita esetén szemcsés aktivitási helyek láthatók. Tartaráttal inkubálva alkalmanként szemcsészettség figyelhető meg a limfocitákban, de egyik egyéb, normálisan előforduló sejtben sem tapasztalható aktivitás.

Eljárás

Fixálás

1. Fixálja a tárgylemezeket 30 másodpercig citrát-aceton oldatban szobahőmérsékleten (18–26 °C).
2. Öblítse le a tárgylemezeket ioncserélt vízben, és hagyja őket a levegőn száradni legalább 15 percig.

Festés

1. Címkezzon fel két 100 ml-es A és B főzőpoharat, és adja hozzá a következőket, minden egyes hozzáadás után megkeverve:

	A főzőpohár	B főzőpohár
37 °C-ra előmelegített víz	46,0 ml	44,0 ml
Acetátoldat	2,0 ml	2,0 ml
Naftol-AS-BI-foszforsav	2,0 ml	2,0 ml
Tartarátoldat	–	2,0 ml

2. Mindegyik főzőpohárhoz adja hozzá 1 db Fast Garnet GBC sókapszula tartalmát. Keverje mágneses keverőn 30–60 másodpercig.
3. Gyorsan szűrje át az oldatokat a Whatman® 54-es számú (vagy ezzel egyenértékű) papíron külön címkével ellátott festőedényekbe.
4. Melegítse az oldatokat a festőedényekben 37 °C-ra vízfürdőben. A tárgylemezek hozzáadása előtt ellenőrizze, hogy a hőmérséklet 37 °C legyen.
5. A szűrt szubsztrátumoldatot tartalmazó minden üvegbe helyezzen legalább 2 db két példányban fixált vérkenetet.
6. Inkubálja a lemezeket 1 órán keresztül 37 °C-on sötétben.
7. Távolítsa el a tárgylemezeket, és mossa őket ioncserélt vízben 3 percig.
8. Végezzen festést savas hematoxinoldatban 5 percig.
9. Öblítse a tárgylemezeket 3 percig ioncserélt vízben, és hagyja őket a levegőn száradni.
10. Végezze el a mikroszkópos értékelést olajimmerziós (900x) lencsével. Oldószeralapú fedőkőzeg használata nem ajánlott, mert az a festés elhalványulását okozhatja.

Teljesítményjellemzők

A festett vérkeneteket általában szubjektíven értékelik a tartarátrezisztens enzim jelenléte vagy hiánya szempontjából. Borkósav hiányában a legtöbb leukocita esetén szemcsés aktivitási helyek láthatók. Tartaráttal inkubálva alkalmanként szemcsészettség figyelhető meg a limfocitákban és néhány specializált makrofágban.³ A vérkenetben pozitív reakciót jelent a több mint két, diffúz és intenzív aktivitást mutató, azaz több mint 40 szemcsét tartalmazó sejt jelenléte.³ A csecsemőmirigy-eredetű limfocitákra (T-sejtek) jellemző Golgi-festés értékeléséhez a Sigma-Aldrich 181-es számú eljárása ajánlott.

A savas foszfataz aktivitása a legtöbb leukocita citoplazmájában lilás-sötétvörös szemcséként jelenik meg.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, forduljon a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatához segítségért.

Analitikai teljesítményjellemzők

Az adott tesztek analitikai teljesítményjellemzői az összes célstruktúrán vizsgálva 100% érzékenység, specifitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifitás	Tesztek közötti érzékenység
3861	Citrátkoncentrátum	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3862	Tartarátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3863	Acetátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3864	Naftol-AS-BI-foszforsav oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
38615	Fast Garnet GBC só	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
2852	Savas hematoxinoldat	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

A frissített kockázati, veszélyességi és biztonsági információkért olvassa el a biztonsági adatlapot és a termék címkézését.

386A:



- H290 Fémekre korrozív hatású lehet.
- H312 Bőrrel érintkezve ártalmas.
- H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.
- H331 Belélegezve mérgező.
- H350 Rákot okozhat.
- H360 Károsíthatja a születendő gyermeket.
- P202 Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
- P234 Az eredeti csomagolásban tartandó.
- P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
- P303 + P361 + P353 HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.
- P304 + P340 + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.
- P305 + P351 + P338 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos baleset történt, kérjük, jelentse azt a gyártónak és/vagy meghatalmazott képviselőjének és a helyi nemzeti hatóságnak.

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

	Gyártó		Katalógusszám
	Lásd a használati utasítást		Gyártási tétel kódja
	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/ Európai Unióban		Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Lejárat dátum		In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr
	A svájci hivatalos képviselőt jelöli		

Hivatkozások

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Átdolgozási előzmények

Rev.: 2.0	2014
Rev.: 3.0	2016
Rev.: 4.0	2023

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. A 4. hivatkozás eltávolítása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. A CH-REP információ hozzáadva.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Az „M” kezdőbetű és a Sigma-Aldrich a Merck KGaA (Darmstadt, Németország) vagy leányvállalatainak védjegyei. Minden egyéb védjegy a megfelelő tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekre vonatkozó részletes információk nyilvánosan hozzáférhető forrásokon keresztül érhetők el.

Návod k použití

Sada leukocytární kyseliny fosfatázy (TRAP)

Postup č. 386



Určené použití

Soupravy Sigma-Aldrich acidická fosfatáza jsou určeny pro obecné laboratorní použití jako histologické barvivo. Reagencie acidické fosfatázy jsou určeny pouze pro profesionální „diagnostické použití in vitro“. Tento manuální, kvalitativní, histochemický postup prokazuje aktivitu acidické fosfatázy v leukocytech lidské krve, kostní dřeně a tkáňových dotykových preparátech. Histologická vizualizace acidické fosfatázy asociované s leukocyty je unikátní technikou, která se v současnosti v medicíně běžně používá.

Použití substituovaných naftol AS fosfátů ve spojení s diazoniovými solemi pro detekci kyselých fosfatáz v lidských leukocytech bylo poprvé zmíněno Goldbergem a Barkou.¹ Postup společnosti Sigma-Aldrich pro prokázání tohoto enzymu v leukocytech je založen na použití naftol AS-BI fosfátů a soli Fast Garnet GBC. Druhá uvedená diazosloučenina byla vybrána, protože se při kyselém pH rychle spojuje a vytváří vysoce nerozpustná depozita barviv. K prokázání přítomnosti kyselých fosfatáz rezistentní vůči vinanu se přidává kyselina vinná.

Podle postupu společnosti Sigma-Aldrich se krevní nátěry inkubují v roztoku obsahujícím naftol AS-BI kyselinu fosforečnou a činidlo Fast Garnet GBC. Duplicitní nátěry se ošetří substrátem obsahujícím L(+)-vinát. Naftol AS-BI, uvolněný enzymatickou hydrolyzou, se okamžitě spojuje s činidlem Fast Garnet GBC a vytváří na místech aktivity nerozpustná depozita kaštanové barvy. Buňky obsahující kyselou fosfatázu citlivou na kyselinu vinnou nejsou aktivní, zatímco na mononukleární buňky obsahující fosfatázu rezistentní vůči kyselině vinné nemá toto ošetření žádný vliv.

Činidla

Koncentrát citrátu (kat. č. 3861-20ML)
Citrátový pufr, 0,38 mol/l, pH 5,4 po zředění podle postupu

Roztok vinanu (kat. č. 3862-20ML)
L(+)-vinanový pufr, 0,67 mol/l, pH 5,2 po zředění podle postupu

Roztok acetátu (kat. č. 3863-50ML)
Acetátový pufr, 2,5 mol/l, pH 5,2 po zředění podle postupu

Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné (kat. č. 3864-40ML)
Naftol AS-BI kyselina fosforečná, 12,5 mg/ml, v N,N'-dimethylformamidu. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při styku s kůží. Způsobuje vážné podráždění očí. Zdraví škodlivý při vdechování. Může poškodit nenarozené dítě. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv. PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

Sůl Fast Garnet GBC (kat. č. 38615-10CAP)
Sůl Fast Garnet GBC, čištěná, 15 mg/tobolka, C.I. 37210. Nebezpečí. Může způsobit rakovinu: Přečtěte si zvláštní návod k použití. Při expozici nebo znepokojení: Vyhledejte lékařskou pomoc.

Roztok kyselého hematoxylinu (kat. č. 2852-100ML)
Hematoxylin, certifikovaný, 1 g/l, C.I. 75290, jodičnan sodný, síran hlinito-amonný a stabilizátory, pH 3,3 při teplotě 25 °C.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Aceton, ACS činidlo
- 37 °C vodní lázeň

Skladování a stabilita

Uchovávejte koncentrát citrátu, roztok vinanu a roztok acetátu v chladničce (2–8 °C). Pokud se objeví zákal, zlikvidujte je.

Uchovávejte sůl Fast Garnet GBC a roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné v chladničce (2–8 °C). Barva roztoku naftol AS-BI kyseliny fosforečné se může lišit od světle žluté po tmavě žlutou. Činidla jsou stabilní do data spotřeby uvedeného na lahvičkách.

Uchovávejte roztok kyselého hematoxylinu při pokojové teplotě (18–26 °C). Pokud doba vhodného zbarvení překročí dobu doporučenou v postupu o více než 5 minut, přípravek zlikvidujte.

Zředěný roztok citrátu je vhodný pro použití, pokud nedochází k viditelnému mikrobiálnímu růstu. Pokud roztok citrátu/acetonu nepoužíváte, musí být pevně uzavřen. Přípravte denně čerstvý.

Příprava

Zředěný roztok citrátu se připraví přidáním 2,0 ml koncentráту citrátu do 18,0 ml vody.

Roztok citrátu/acetonu se připraví přidáním 20,0 ml zředěného roztoku citrátu do 30,0 ml acetonu.

POZNÁMKA: Pokud roztok citrátu/acetonu nepoužíváte, uchovávejte jej pevně uzavřený. Přípravte denně čerstvý.

Bezpečnostní opatření

Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pro diagnostické použití in vitro v klinickém laboratorním prostředí. Tyto diagnostické zdravotnické prostředky in vitro jsou určeny pouze pro profesionální použití kvalifikovaným personálem. Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro Sigma-Aldrich mohou být používány laboratorními pracovníky, kteří jsou vyškoleni k manipulaci s lidskými vzorky, které mohou být infekční, k používání mikroskopů a jiného laboratorního vybavení a jejich barevné vidění a ostrost zraku jsou dostatečné pro rozlišení barev a různých objektů pod mikroskopem.

Při zacházení s laboratorními činidly dodržujte běžná bezpečnostní opatření. Odpad zlikvidujte podle všech místních, regionálních či národních předpisů.

Postup

Odběr vzorků

Žádná známá zkušební metoda nemůže nabídnout naprosté ujištění, že vzorky krve nebo tkáně nebudou zdrojem infekce. Všechny krevní deriváty nebo vzorky tkání je proto nutné považovat za potenciálně infekční.

Lze použít nátěry krve a kostní dřeně, tkáňové preparáty a cytotrifugační preparáty. Jako antikoagulant poslouží buď EDTA, nebo heparin. Nátěry krve nebo kostní dřeně mohou být uchovávány při pokojové teplotě (18–26 °C) po dobu několika týdnů nebo bez fixace po dobu několika dnů bez ztelné změny aktivity.² Neposílejte plnou krev k analýze do jiných laboratorí. Posílejte fixovanou nebo nefixovanou sklička. Sklička by měla být během přepravy uchovávána v chladu. Nechejte nátěry uschnout nejméně 1 hodinu před fixací.

Poznámky

Účinnost testů lze monitorovat zahrnutím krevních nátěrů od zdravého jedince. Při absenci kyseliny vinné vykazují všechny leukocyty zrnitá místa aktivity. Při inkubaci s vinanem může být v lymfocytech občas pozorován výskyt zrnitosti, ale všechny ostatní normálně se vyskytující buňky jsou bez aktivity.

Postup

Fixace

1. Zafixujte sklička po dobu 30 sekund v roztoku citrátu/acetátu při pokojové teplotě (18–26 °C).
2. Opláchněte sklička v deionizované vodě a nechte uschnout na vzduchu po dobu nejméně 15 minut.

Barvení

1. Označte dvě 100ml kádinky A a B a přidejte následující, přičemž po každém přidání promíchejte:

	Kádinka A	Kádinka B
Voda předehřátá na 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Acetátový roztok	2,0 ml	2,0 ml
Naftol AS-BI kyselina fosforečná	2,0 ml	2,0 ml
Roztok vinanu	–	2,0 ml

2. Do každé kádinky přidejte obsah 1 tobolky soli Fast Grannet GBC. Míchejte na magnetickém mixéru po dobu 30–60 sekund.
3. Roztoky rychle přefiltrujte přes papír Whatman® č. 54 (nebo ekvivalent) do oddělených označených nádob na barvení.
4. Ohřejte roztoky v nádobách na barvení ve vodní lázni na 37 °C. Před přidáním skliček zkontrolujte, zda je teplota 37 °C.
5. Do každé nádoby obsahující přefiltrovaný roztok substrátu vložte alespoň 2 stejné fixované krevní nátěry.
6. Inkubujte sklička po dobu 1 hodiny ve tmě při teplotě 37 °C.
7. Vyjměte sklička a omyjte v deionizované vodě po dobu 3 minut.
8. Barvěte v roztoku hematoxylinu po dobu 5 minut.
9. Opláchněte sklička v deionizované vodě po dobu 3 minut a nechte uschnout.
10. Vyhodnoťte mikroskopicky pomocí čočky s olejovou imerzí (900X). Použití montážních médií na bázi rozpouštědla se nedoporučuje, protože mohou způsobit vyblednutí barev.

Pracovní charakteristiky

Barvené krevní nátěry jsou hodnoceny subjektivně na přítomnost nebo nepřítomnost retikulocytů. Při absenci kyseliny vinné vykazuje většina leukocytů zrnitá místa aktivity. Při inkubaci ve vinanu mohou být občas pozorovány granule v lymfocytech a některých specializovaných makrofátech.³ U krevních nátěrů je pozitivní reakce označena přítomností více než dvou buněk s difúzní a intenzivní aktivitou, tj. více než 40 granulí.³ Pro vyhodnocení Golgiho barvení, charakteristického pro lymfocyty thymu (T-lymfocyty), se doporučuje postup č. 181 společnosti Sigma-Aldrich.

Aktivita kyselých fosfatáz se v cytoplasmě většiny leukocytů jeví jako fialové až tmavě červené granule.

Pokud se pozorované výsledky liší od očekávaných výsledků, obraťte se na technický servis společnosti Sigma-Aldrich.

Analytické pracovní charakteristiky

Analytické výsledky daných testů provedených na všech cílových strukturách potvrzují 100% citlivost, specifčnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
3861	Koncentrát citrátu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3862	Roztok vinanu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3863	Acetátový roztok	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3864	Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
38615	Sůl Fast Garnet GBC	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
2852	Roztok kyselého hematoxylinu	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

Aktuální informace o rizicích, nebezpečích a bezpečnosti si přečtěte v bezpečnostním listu a na označení výrobku.

386A:



- H290 Může být korozivní pro kovy.
- H312 Zdraví škodlivý při styku s kůží.
- H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H331 Toxický při vdechování.
- H350 Může způsobit rakovinu.
- H360 Může poškodit nenarozené dítě.
- P202 Nemanipulujte, dokud si nepřečtete a neporozumíte všem bezpečnostním opatřením.
- P234 Uchovávejte pouze v původním obalu.
- P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobcí a/nebo jeho autorizovanému zástupci a vašemu národnímu úřadu.

Definice symbolů

Symbody definované v normě EN ISO 15223-1:2021

	Výrobce		Katalogové číslo
	Přečtěte si Návod k použití		Kód šarže
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství / Evropské unii		Prohlášení o shodě s předpisy Evropské unie (podle definice v IVDR 2017/746)
	Datum spotřeby		Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Teplotní limit		Upozornění
	Datum výroby		Dovozce
	Označuje autorizovaného zástupce ve Švýcarsku		

Reference

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Historie revizí

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Odstraněna reference číslo 4. Přidána varování a rizika. Přidány informace CH-REP.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvordstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Počáteční M a Sigma-Aldrich jsou ochranné známky společnosti Merck KGaA, Darmstadt, Německo nebo jejich přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Leukocytttsyrefosfatase (TRAP)-sett

Prosedyre nr. 386



Tiltenkt bruk

Sigma-Aldrich syrefosfatase-sett er ment å være en generell histologisk fargeløsning for bruk i et laboratorium. Syrefosfatase-reagenser er kun for profesjonell "in vitro-diagnostisk bruk". Denne manuelle, kvantitative og histokjemiske prosedyren demonstrerer syrefosfataseaktivitet i leukocytter i menneskeblod, benmargsfilmer eller vevsberøringsavtrykk. Histologisk visualisering av leukocytter-forbundet syrefosfatase er en unik teknikk som ofte brukes innen medisin.

Bruk av substituerte naftol-AS-fosfater i forbindelse med diazoniumsalter for påvisning av sur fosfatase i humane leukocytter ble først rapportert av Goldberg og Barka.¹ Sigma-Aldrich-prosedyren for å påvise dette leukocyttenzymet er basert på bruk av naftol-AS-BI-fosfat og Fast Garnet GBC-salt. Sistnevnte diazoforbindelse ble valgt fordi den kobler seg raskt ved sur pH, og danner svært uøselige fargestoffavsetninger. Vinsyre er gitt for å påvise tilstedeværelsen av tartratresistent sur fosfatase.

I henhold til Sigma-Aldrich-prosedyren inkuberes blodfilmer i en løsning som inneholder naftol-AS-BI-fosforsyre og Fast Garnet GBC. Dupliserte filmer behandles med L(+) -tartratholdig substrat. Naftol-AS-BI, frissatt ved bruk av enzymatisk hydrolyse, kobles umiddelbart til Fast Garnet GBC og danner uoppløselige avleiringer av burgunderrødt fargestoff på steder med aktivitet. Celler som inneholder vinsyresensitiv-sur-fosfatase har ingen aktivitet, mens de mononukleære cellene som inneholder vinsyresensitiv fosfatase ikke påvirkes av slik behandling.

Reagenser

Sitratkonsentrat (kat.nr. 3861-20ML)
Sitratbuffer, 0,38 mol/l, pH 5,4 ved fortynning i henhold til prosedyren

Tartratløsning (kat.nr. 3862-20ML)
L(+) -tartratbuffer, 0,67 mol/l, pH 5,2 ved fortynning i henhold til prosedyren

Acetatløsning (kat.nr. 3863-50ML)
Acetatbuffer, 2,5 mol/l, pH 5,2 ved fortynning i henhold til prosedyren

Naftol-AS-BI-fosforsyreløsning (kat.nr. 3864-40ML)
Naftol-AS-BI-fosforsyre, 12,5 mg/ml, i N,N'-dimetylformamid. Fare. Farlig ved hudkontakt. Gir alvorlig øyeirritasjon. Farlig ved innånding. Kan gi fosterskader. Benytt vernehansker/verneklær. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

Fast Garnet GBC-salt (kat.nr. 38615-10CAP)
Fast Garnet GBC-salt, rensset, 15 mg/kapsel, C.I. 37210. Fare. Kan forårsake kreft: Innhent særskilt instruks før bruk. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Syrehematoksylinløsning (kat.nr. 2852-100ML)
Hematoksylin, sertifisert, 1 g/l, C.I. 75290, natriumjodat, aluminiumammoniumsulfat og stabiliseringsmidler, pH 3,3 ved 25 °C.

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Aceton, ACS-reagens
- 37 °C vannbad

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar sitratkonsentrat, tartratløsning og acetatløsning i kjøleskap (2–8 °C). Kast hvis det oppstår uklarhet.

Oppbevar Fast Garnet GBC-salt og naftol-AS-BI-fosforsyreløsning i kjøleskap (2–8 °C). Fargen på naftol-AS-BI-fosforsyreløsning kan variere fra lys til mørk gul. Reagenser er stabile frem til utløpsdatoen på flaskene.

Oppbevar syrehematoksylinløsning i romtemperatur (18–26 °C). Kasser når tiden for egnet farging overskrider tiden som er anbefalt i prosedyren med mer enn 5 minutter.

Fortynnet sitratløsning er egnet for bruk ved fravær av mikrobiell vekst. Sitrat-/acetonløsning bør holdes tett lukket når den ikke er i bruk. Fremstill fersk daglig.

Fremstilling

Fortynnet sitratløsning fremstilles ved å tilsette 2,0 ml sitratkonsentrat i 18,0 ml vann.

Sitrat-/acetonløsningen fremstilles ved å tilsette 20,0 ml fortynnet sitratløsning til 30,0 ml aceton.

MERK: Hold sitrat-/acetonløsning tett lukket når den ikke er i bruk. Fremstill fersk daglig.

Forsiktighetsregler

IVD-ene inkludert i dette settet er beregnet for in vitro-diagnostisk bruk i et klinisk laboratoriemiljø. Disse IVD-ene er kun for profesjonell bruk av kvalifisert personell. Sigma-Aldrich-IVD-er kan betjenes av laboratoriepersonell som er opplært i å håndtere humane prøver som kan være smittsomme, bruke mikroskoper og annet laboratorieutstyr og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

Normale forsiktighetsregler for håndtering av laboratoriereagenser bør følges. Avfall må kastes i samsvar med alle lokale, statlige, provinsielle eller nasjonale forskrifter.

Prosedyre

Prøvetaking

Ingen kjent testmetode kan fullt ut forsikre at blodprøver eller vev ikke utgjør en smittefare. Alle blodderivater eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Blod, benmargsfilmer, vevsberøringsavtrykk og cytosentrifugepreparater kan brukes. Enten EDTA eller heparin fungerer som antikoagulanter. Blod- eller benmargsfilmer kan oppbevares fiksert i romtemperatur (18–26 °C) i flere uker eller ufiksert i flere dager uten merkbar endring i aktivitet.² Send ikke fullblod til analysing på andre laboratorier. Send fikserte eller ufikserte objektglass. Objektglass bør oppbevares kjølig under transport. La filmen tørke minst 1 time før fiksering.

Merknader

Testytelsen kan overvåkes ved å inkludere blodfilmer fremstilt fra en friskt person. I fravær av vinsyre viser alle leukocytter granulære aktivitetssteder. Når inkubert med tartrat, kan sporadiske granuler observeres i lymfocytter, men det er ingen aktivitet i noen andre normalt forekommende celler.

Prosedyre

Fiksering

1. Fikser objektglassene i sitrat-aceton-løsning i 30 sekunder i romtemperatur (18–26 °C).
2. Skyll objektglassene i avionisert vann og la dem lufttørke i minst 15 minutter.

Farging

1. Merk to 100 ml begre A og B og tilsett følgende, mens du blander etter hver tilsetning:

	Beger A	Beger B
Vann, forvarmet til 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Acetatløsning	2,0 ml	2,0 ml
Naftol-AS-BI-fosforsyre	2,0 ml	2,0 ml
Tartratløsning	–	2,0 ml
2. Tilsett innholdet av 1 kapsel Fast Garnet GBC-salt i hvert beger. Rør på magnetmikser i 30–60 sekunder.
3. Filtrér løsninger raskt gjennom Whatman® nr. 54 (eller tilsvarende) papir i separate, merkede fargingsbeholdere.
4. Varm løsningene i fargingsbeholdere til 37 °C i vannbad. Sjekk at temperaturen er 37 °C før du legger til objektglass.
5. Plasser minst 2 dupliserte, fikserte blodfilmer i hver beholder som inneholder den filtrerte substratløsningen.
6. Inkuber objektglassene i 1 time ved 37 °C i mørket.
7. Fjern objektglassene og vask dem i avionisert vann i 3 minutter.
8. Farg i syrehematoksylinløsning i 5 minutter.
9. Skyll objektglassene i avionisert vann i 3 minutter og la dem lufttørke.
10. Evaluer mikroskopisk med oljenedsenkingslinse (900X). Bruk av løsemiddelbaserte monteringsmedier anbefales ikke, da de kan føre til falming av fargingen.

Ytelsesegenskaper

Fargede blodfilmer blir vanligvis evaluert subjektivt for tilstedeværelse eller fravær av tartratresistent enzym. I fravær av vinsyre viser de fleste leukocytter granulære aktivitetssteder. Når inkubert med tartrat, kan en og annen granul observeres i lymfocytter og noen spesialiserte makrofager.³ I blodutstryk er en positiv reaksjon angitt ved tilstedeværelse av mer enn to celler med diffus og intens aktivitet, dvs. mer enn 40 granuler.³ For å evaluere Golgi-farging, karakteristisk for thymus-deriverte lymfocytter (T-celler), anbefales Sigma-Aldrich-prosedyre nr. 181.

Syrefosfataseaktivitet vises som lilla til mørkerøde granuler i cytoplasmaet til de fleste leukocytter.

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt teknisk service hos Sigma-Aldrich for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
3861	Sitratkonsentrat	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3862	Tartratløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3863	Acetatløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3864	Naftol-AS-BI-fosforsyreløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
38615	Fast Garnet GBC-salt	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2852	Syrehematoksylin-løsning	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

Se sikkerhetsdatablad og produktmerking for oppdatert risiko-, fare- eller sikkerhetsinformasjon.

386A:



- H290 Kan være etsende for metaller.
- H312 Farlig ved hudkontakt.
- H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.
- H331 Giftig ved innånding.
- H350 Kan forårsake kreft.
- H360 Kan gi fosterskader.
- P202 Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
- P234 Oppbevares bare i originalemballasjen.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, rapporter det til produsenten og/eller produsentens autoriserte representant og til din nasjonale myndighet.

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

	Produsent		Katalognummer
	Se bruksanvisning		Batchkode
	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU		EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato		In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir autorisert representant i Sveits		

Referanser

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktinformasjon

For å legge inn en bestilling, besøk nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Besøk siden for teknisk service på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice) for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. Fjernet referansenummer 4. La til advarsler og farer. La til informasjon om CH-REP.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initialen M og Sigma-Aldrich er varemerker for Merck KGaA, Darmstadt, Tyskland eller dets tilknyttede selskaper. Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere. Detaljert informasjon om varemerker er tilgjengelig via offentlig tilgjengelige ressurser.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Kullanma Talimatı

Lökosit Asit Fosfataz (TRAP) Kiti

Prosedür No. 386



Kullanım Amacı

Sigma-Aldrich Asit Fosfataz kitleri genel laboratuvar kullanımı için histolojik boya olarak tasarlanmıştır. Asit Fosfataz reaktifleri yalnızca profesyonel "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Bu manuel, kalitatif, histokimyasal prosedür, insan kanı, kemik iliği ve doku dokundurma preparatlarının lökositlerinde, asit fosfataz aktivitesini gösterir. Lökositle bağlantılı asit fosfatazın histolojik olarak görüleştirmesi, şu anda tıpta yaygın olarak kullanılan benzersiz bir tekniktir.

İnsan lökositlerinde asit fosfatazın saptanması için ikame edilmiş naftol AS fosfatların diazonyum tuzları ile birlikte kullanımı ilk olarak Goldberg ve Barka tarafından rapor edilmiştir.¹ Bu lökosit enzimini göstermek için kullanılan Sigma-Aldrich prosedürü, naftol AS-BI fosfat ve hızlı garnet GBC tuzunun kullanımına dayanmaktadır. İkinci diazo bileşiği, asit pH'ta hızla birleşerek yüksek oranda çözünmez boya birikintileri oluşturduğu için seçilmiştir. Tartarata dirençli asit fosfatazın varlığını göstermek için tartarik asit sağlanmıştır.

Sigma-Aldrich prosedürüne göre kan filmleri, naftol AS-BI fosforik asit ve hızlı garnet GBC içeren bir çözelti içinde inkübe edilir. Kopya filmler, L(+) -tartarat içeren substrat ile işlenir. Enzimatik hidrolizle salınan Naftol AS-BI, aktivite bölgelerinde çözünür kestane rengi boya birikintilerinde hızlı garnet GBC oluşumuyla hemen birleşir. Tartarik aside duyarlı asit fosfataz içeren hücreler aktivite göstermezken tartarik aside dirençli fosfataz içeren mononükleer hücreler bu tür bir işlemle etkilenmez.

Reaktifler

Sitrat Konsantresi (Kat. No. 3861-20ML)

Sitrat tamponu, 0,38 mol/L, prosedüre göre seyreltildiğinde pH 5,4.

Tartarat Çözeltisi (Kat. No. 3862-20ML)

L(+)-Tartarat tamponu, 0,67 mol/L, prosedüre göre seyreltildiğinde pH 5,2.

Asetat Çözeltisi (Kat. No. 3863-50ML)

Asetat tamponu, 2,5 mol/L, prosedüre göre seyreltildiğinde pH 5,2.

Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi (Kat. No. 3864-40ML)

Naftol AS-BI fosforik asit, 12,5 mg/mL, N,N'-dimetil formamid içinde. Tehlike. Cilt ile teması zararlıdır. Ciddi göz tahrişine neden olur. Solunması halinde zararlıdır. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir. Korumacı eldiven/korumacı giysi giyin. GÖZLE TEMASı DURUMUNDA: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Hızlı Garnet GBC Tuzu (Kat. No. 38615-10CAP)

Hızlı garnet GBC tuzu, saflaştırılmış, 15 mg/kapsül, C.I. 37210. Tehlike. Kansere neden olabilir:

Özel kullanma talimatlarını edinin. Maruz kalınması veya endişe edilen bir durum olması

HALİNDE: Tıbbi tavsiye/müdahale alın.

Asit Hematoksilen Çözeltisi (Kat. No. 2852-100ML)

Hematoksilen, sertifikalı, 1 g/L, C.I. 75290, alüminyum amonyum sülfat, sodyum iyodatlar ve stabilizatörler, 25°C'de pH 3,3.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Aseton, ACS Reaktifi
- 37°C su banyosu

Saklama ve Stabilité

Sitrat Konsantresi, Tartarat Çözeltisi ve Asetat Çözeltisini buzdolabında (2–8°C) saklayın. Bulanıklık oluşursa atın.

Hızlı Garnet GBC Tuzu ve Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisini buzdolabında (2–8°C) saklayın.

Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisinin rengi soluk sarıdan koyu sarıya kadar değişebilir. Reaktifler, şişelerde gösterilen son kullanma tarihine kadar stabildir.

Asit Hematoksilen Çözeltisini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Uygun boyama süresi prosedürde tavsiye edilen süreyi 5 dakikadan fazla aşarsa atın.

Seyreltilmiş sitrat çözeltisi, görünür mikrobiyal büyümenin olmadığı durumlarda kullanıma uygundur. Sitrat/Aseton çözeltisi kullanılmadığında ağzı sıkıca kapatılmalıdır. Günlük yeni çözelti hazırlayın.

Hazırlama

Seyreltilmiş Sitrat çözeltisi 18,0 mL suya 2,0 mL Sitrat Konsantresi eklenerek hazırlanır.

Sitrat/Aseton çözeltisi, 30,0 mL asetona 20,0 mL seyreltilmiş sitrat çözeltisi eklenerek hazırlanır.

NOT: Sitrat/Aseton Çözeltisi kullanılmadığı zaman ağzı sıkıca kapalı olarak tutun. Günlük yeni çözelti hazırlayın.

Önlemler

Bu IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarının kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağını tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Kan, kemik iliği filmleri, doku dokundurma preparatları ve hücre santrifüj preparatları kullanılabilir. EDTA veya heparin, antikoagülan görevi görecekler. Kan veya kemik iliği filmleri, aktivitede kayda değer bir değişiklik olmaksızın oda sıcaklığında (18–26°C) fiksasyon ile birkaç hafta veya fiksasyon olmadan birkaç gün saklanabilir.² Diğer laboratuvarlarda tahlil için tam kanı göndermemeyin. Fiksasyonlu ve fiksasyonsuz lamları gönderin. Taşıma sırasında lamlar soğuk kalmalıdır. Fiksasyondan en az 1 saat önce filmlerin kurumasını bekleyin.

Notlar

Test performansı, sağlıklı bir kişiden hazırlanan kan filmleri dahil edilerek izlenebilir. Tartarik asit olmadığı durumlarda, tüm lökositler granüler aktivite alanları gösterir. Tartarik ile inkübe edildiğinde lenfositlerde ara sıra bir granül gözlenebilir, ancak normal olarak oluşan diğer tüm hücreler aktivite göstermez.

Prosedür

Fiksasyon

- Lama oda sıcaklığında (18–26°C) Sitrat/Aseton Çözeltisinde 30 saniye fiksasyon uygulayın.
- Lamları deiyonize suda durulayın ve en az 15 dakika kurumaya bırakın.

Boyama

- İki adet 100 mL'lik beheri A ve B olarak etiketleyin ve her eklemeden sonra karıştırarak aşağıdakileri ekleyin:

	Beher A	Beher B
Önceden 37°C'ye ısıtılmış su	46,0 mL	44,0 mL
Asetat Çözeltisi	2,0 mL	2,0 mL
Naftol AS-BI Fosforik Asit	2,0 mL	2,0 mL
Tartarat Çözeltisi	—	2,0 mL

- Her beher 1 kapsül Fast Garnet GBC Tuzu içeriğini ekleyin. Manyetik karıştırıcıda 30–60 saniye karıştırın.
- Hızlı bir şekilde çözeltileri Whatman® No. 54 (veya eşdeğeri) kağıt ile ayrı etiketli boyama kavanozlarında filtreleyin.
- Çözeltileri boyama kavanozlarında 37°C'ye kadar su banyosu ile ısıtın. Lamları eklemeden önce sıcaklığın 37°C'de olduğunu doğrulayın.
- Filtrelenmiş substrat çözeltisi içeren her bir kavanoza en az 2 çift fiksasyon uygulanmış kan filmi yerleştirin.
- Lamları karanlıkta 37°C'de 1 saat inkübe edin.
- Lamları çıkarın ve deiyonize suda 3 dakika yıkayın.
- Asit Hematoksilen Çözeltisi içinde 5 dakika boyama yapın.
- Lamları deiyonize suda 3 dakika durulayın ve kurumaya bırakın.
- Yağa batırılmış (900X) lens kullanarak mikroskopik olarak değerlendirin. Solvent bazlı yerleştirme ortamının kullanılması, boyaların solmasına neden olabileceğinden önerilmez.

Performans Özellikleri

Boyalı kan filmleri genellikle tartarata dirençli enzimin varlığı veya yokluğu açısından subjektif olarak değerlendirilir. Tartarik asit olmadığı durumlarda, çoğu lökosit granüler aktivite alanları gösterir. Tartarik ile inkübe edildiğinde, lenfositlerde ve bazı özel makrofajlarda ara sıra bir granül gözlemlenebilir.³ Kan smear'larında pozitif reaksiyon, yaygın ve yoğun aktiviteye sahip ikiden fazla hücrenin, yani 40'tan fazla granülün varlığıyla gösterilir.³ Timus kaynaklı lenfositlerin (T hücreleri) özelliği olan Golgi boyamasını değerlendirmek için Sigma-Aldrich Prosedürü No. 181 önerilir.

Asit Fosfataz aktivitesi, çoğu lökositin sitoplazmasında morumsu ila koyu kırmızı granüller olarak görünür.

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

Tüm hedef yapılar üzerinde yürütülen belirli testlere ait analitik performans sonuçları %100 duyarlılık, özgüllük ve tekrarlanabilirliği doğrulamaktadır.

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliller Arası Özgüllük	Tahliller Arası Duyarlılık
3861	Sitrat Konsantresi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3862	Tartarat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3863	Asetat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3864	Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
38615	Hızlı Garnet GBC Tuzu	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
2852	Asit Hematoksilen Çözeltisi	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

Güncellenmiş herhangi bir risk, tehlike veya güvenlik bilgisi için Güvenlik Veri Formuna ve ürün etiketine bakın.

386A:



H290 Metaller için aşındırıcı olabilir.

H312 Cilt ile teması zararlıdır.

H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H331 Solunması durumunda toksiktir.

H350 Kansere neden olabilir.

H360 Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.

P234 Yalnızca orijinal ambalajının içinde saklayın.

P280 Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P303 + P361 + P353 CİLTLE (veya saçla) TEMASI halinde: Tüm kontamine giysilerinizi hemen çıkarın. Cildinizi suyla durulayın.

P304 + P340 + P310 SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

P305 + P351 + P338 GÖZLE TEMASI HALİNDE: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

Bu cihazın kullanımı sırasında veya kullanımı sonucunda ciddi bir olay meydana gelirse, lütfen bunu üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve ulusal yetkili makamınıza bildirin.

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

	Üretici		Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın		Parti Kodu
	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci		Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi		İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı
	İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi Belirtir		

Referanslar

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice) adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. 4 numaralı referans kaldırıldı. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. İsviçre'deki yetkili temsilci bilgileri eklendi.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Initial M ve Sigma-Aldrich; Merck KGaA, Darmstadt, Almanya veya bağlı kuruluşlarının ticari markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Käyttöohje

Leukosyyttien happaman fosfataasin (TRAP) pakkaus

Menetelmänro 386



Käyttötarkoitus

Sigma-Aldrichin happaman fosfataasin pakkaus on tarkoitettu histologiseen värjäykseen yleisessä laboratoriokäytössä. Happamat fosfataasireagenssit on tarkoitettu vain ammatikkäyttöön ”in vitro -diagnostiikassa”. Tämä manuaalinen, kvalitatiivinen, histokemiallinen menetelmä osoittaa happaman fosfataasin toiminnan ihmisen verinäytteiden, luuytimen tai kudосosketusvalmisteiden leukosyyteissä. Leukosyytteihin liittyvän happaman fosfataasin histologinen visualisointi on ainutlaatuinen tekniikka, joka on nykytietäessä yleisessä käytössä.

Goldberg ja Barka raportoivat ensimmäisinä substituotujen naftoli-AS-fosfaattien käytöstä yhdessä diatsoniumsuolojen kanssa happaman fosfataasin havaitsemiseksi ihmisen leukosyyteissä.¹ Sigma-Aldrichin menetelmä tämän leukosyyttientsymin osoittamiseksi perustuu naftoli-AS-BI-fosfaatin ja nopean granaatti-GBC-suolan käyttöön. Jälkimmäinen diatsoyhdiste valittiin ominaisuuksien ansiosta, sillä se kytkeytyy nopeasti happamassa pH:ssa, jolloin väriainekertymien liukenemattomuusaste on korkea. Pakkauksen sisältämällä viinihapolla osoitetaan tartraattiresistentin fosfataasin läsnäolo.

Sigma-Aldrichin menetelmässä veren sivelyvalmisteita inkuboidaan liuoksessa, joka sisältää naftoli-AS-BI-fosforihappoa ja nopeaa granaatti-GBC:tä. Sivelyvalmisteiden kaksoiskappaleet käsitellään L(+)-tartraattia sisältävällä substraattilla. Entsymaattisen hydrolyysin vapauttama naftoli-AS-BI kytkeytyy välittömästi nopeaan granaatti-GBC:hen ja muodostaa liukenemattomia violetinruskeita värikertymiä toiminta-alueille. Viinihappoherkkää hapanta fosfataasia sisältävillä soluilla toimintaa ei ole, kun taas viinihapporesistenttiä fosfataasia sisältäviin yksitumaisiin soluihin tällainen käsittely ei vaikuta.

Reagenssit

Sitraattikonsentraatti (luettelonro 3861-20ML)
Sitraattipuskuri, 0,38 mol/l, pH 5,4, menettelyohjeiden mukaisesti laimennettuna

Tartraattiliuos (luettelonro 3862-20ML)
L(+)-tartraattipuskuri, 0,67 mol/l, pH 5,2, menettelyohjeiden mukaisesti laimennettuna

Asetaattiliuos (luettelonro 3863-50ML)
Asetaattipuskuri, 2,5 mol/l, pH 5,2, menettelyohjeiden mukaisesti laimennettuna

Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos (luettelonro 3864-40ML)
Naftoli-AS-BI-fosforihappo, 12,5 mg/ml, N,N'-dimetyyliformamidissa. Vaara. Haitallista joutuessaan iholle. Ärsyttää voimakkaasti silmiä. Haitallista hengitettynä. Saattaa vaurioittaa sikiötä. Käytä suojakäsineitä/suojavaateita. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Nopea granaatti-GBC-suola (luettelonro 38615-10CAP)
Nopea granaatti-GBC-suola, puhdistettu, 15 mg/kapseli, väri-indeksi 37210. Vaara. Saattaa aiheuttaa syöpää: Lue erityiset käyttöohjeet. Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Hakeudu lääkäriin.

Hapan hematoksyliiniliuos (luettelonro 2852-100ML)
Hematoksyliini, sertifiointi, 1 g/l, väri-indeksi 75290, natriumjodaatti, alumiiniammoniumsulfaatti ja stabilointiaineet, pH 3,3 lämpötilan ollessa 25 °C.

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Asetoni, ACS-reagenssi
- 37 °C:n vesihaude

Säilytys ja stabiilius

Säilytä sitraattikonsentraatti, tartraattiliuos ja asetaattiliuos jääkaapissa (2–8 °C). Hävitä liuos, jos se samenee.

Säilytä nopea granaatti-GBC-suola ja naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos jääkaapissa (2–8 °C). Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuoksen väri voi vaihdella vaaleasta tummankeltaiseen. Reagenssit ovat stabiileja pulloissa ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka.

Säilytä hapan hematoksyliiniliuos huoneenlämmössä (18–26 °C). Hävitä, kun soveltuvaan värjäykseen kuluva aika ylittää menetelmässä suositellun ajan yli viidellä minuutilla.

Laimennettu sitraattiliuos soveltuu käytettäväksi, kun näkyvää mikrobikasvua ei ole. Sitraatti-asetoniliuos on pidettävä tiiviisti suljettuna, kun sitä ei käytetä. Valmista tuore liuos päivittäin.

Valmistelu

Laimennettu sitraattiliuos valmistetaan lisäämällä 2,0 ml sitraattikonsentraattia 18,0 ml:aan vettä.

Sitraatti-asetoniliuos valmistetaan lisäämällä 20,0 ml laimennettua sitraattiliuosta 30,0 ml:aan asetonia.

HUOMAUTUS: Pidä sitraatti-asetoniliuos tiiviisti suljettuna, kun sitä ei käytetä. Valmista tuore liuos päivittäin.

Varotoimet

Nämä in vitro -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi ”in vitro -diagnostiikassa” kliinisessä laboratoriympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. In vitro -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisperäisiä näytteitä ja käyttämään mikroskooppeja ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskoopilla.

Normaaleja laboratorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varotoimia tulee noudattaa. Hävitä jätteet kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

Menettely

Näytteenotto

Millään tunnetulla testimenetelmällä ei voida täysin taata, että veri- tai kudосnäytteet eivät tartuttaisi infektiota. Siksi kaikkia verijohdannaisia ja kudосnäytteitä on pidettävä mahdollisesti tartuntavaarallisina.

Verta, luuytimen sivelyvalmisteita, kudосosketusvalmisteita ja sytosentrifugivalmisteita voidaan käyttää. Antikoagulanttina käytetään joko EDTA:ta tai hepariinia. Veren tai luuytimen sivelyvalmisteita voidaan säilyttää kiinnitettyinä huoneenlämmössä (18–26 °C) useita viikkoja tai kiinnittämättöminä useita päiviä ilman huomattavaa muutosta toiminnassa.² Älä lähetä kokoverta määritettäväksi toisiin laboratorioihin. Lähetä kiinnitettyjä tai kiinnittämättömiä objektilaseja. Objektilasit on pidettävä viileinä kuljetuksen aikana. Anna sivelyvalmisteiden kuivua vähintään yksi tunti ennen kiinnitystä.

Huomautukset

Testin suorituskykyä voidaan valvoa sisällyttämällä testiin terveeltä henkilöltä otetun veren sivelyvalmisteita. Viinihapon puuttuessa kaikissa leukosyyteissä havaitaan granulaarisia toiminta-alueita. Tartraatin kanssa inkuboituina lymfосsyyteissä voidaan havaita satunnaisia granuloita, mutta muissa normaalisti esiintyvissä soluissa ei ilmene toimintaa.

Menettely

Kiinnitys

- Kiinnitä objektilaseja sitraatti-asetoniliuoksessa 30 sekuntia huoneenlämmössä (18–26 °C).
- Huuhtele objektilasit deionisoidussa vedessä ja anna kuivua vähintään 15 minuuttia.

Värjäys

- Merkitse kaksi 100 ml:n dekanterilasias A ja B ja lisää seuraavat aineet sekoittaen jokaisen lisäyksen jälkeen:

	Dekanterilasi A	Dekanterilasi B
Vesi, esilämmitetty 37 °C:seen	46,0 ml	44,0 ml
Asetaattiliuos	2,0 ml	2,0 ml
Naftoli-AS-BI-fosforihappo	2,0 ml	2,0 ml
Tartraattiliuos	–	2,0 ml

- Lisää yhden nopeaa granaatti-GBC-suolaa sisältävän kapselin sisältö molempiin dekanterilaseihin. Sekoita magneettisekoittimella 30–60 sekuntia.
- Suodata liuokset nopeasti Whatman®-paperin nro 54 (tai vastaavan) läpi erillisiin merkittyihin värjäysastioihin.
- Lämmitä liuokset värjäysastioissa 37 °C:seen vesihauteessa. Tarkista ennen objektilasien lisäämistä, että lämpötila on 37 °C.
- Aseta vähintään kaksi kiinnitettyjen veren sivelyvalmisteiden kaksoiskappaleita molempiin suodatettua subtraattiliuosta sisältäviin astioihin.
- Inkuboi objektilaseja yksi tunti pimeässä 37 °C:n lämpötilassa.
- Poista objektilasit ja pese deionisoidussa vedessä kolmen minuutin ajan.
- Värjää happamassa hematoksyliiniliuoksessa viiden minuutin ajan.
- Huuhtele objektilaseja deionisoidussa vedessä kolmen minuutin ajan ja anna kuivua.
- Arvioi mikroskooppisesti öljymmersiolinssin (900X) avulla. Liuotinpohjaisten petausainesten käyttöä ei suositella, koska ne voivat aiheuttaa värjäyksen haalistumista.

Suorituskykyominaisuudet

Tartraattiresistentin entsyymien läsnäolo värjätyissä veren sivelyvalmisteissa arvioidaan yleensä subjektiivisesti. Mikäli viinihappoa ei ole, suurimmassa osassa leukosyyttejä havaitaan granulaarisia toiminta-alueita. Tartraatin kanssa inkuboituina lymfосsyyteissä ja joissain erikoistuneissa makrofageissa voidaan havaita satunnaisia granuloita.³ Veren sivelynäytteissä positiivinen reaktio ilmenee useammasta kuin kahdesta solusta, joissa on diffuusia ja voimakasta toimintaa, eli yli 40 granulaata.³ Kateenkorvasta peräisin oleville lymfосsyyteille (T-solut) ominaisen Golgin värjäyksen arviointiin suositellaan Sigma-Aldrichin menetelmää nro 181.

Happaman fosfataasin toiminta näkyy useimpien leukosyyttien sytoplasmassa olevista granuloista, joiden väri vaihtelee purppuraisesta tummanpunaiseen.

Jos havaitut tulokset eroavat odotetuista tuloksista, ota yhteyttä Sigma-Aldrichin tekniseen palveluun.

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

Kaikilla kohderakenteilla suoritetuista testeistä saadut analyttiset suorituskykytulokset vahvistavat 100-prosenttisen herkkyyden, spesifisyyden ja toistettavuuden.

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittymisen sisäisen spesifisyys	Määrittymisen sisäinen herkkyys	Määrittysten välinen spesifisyys	Määrittysten välinen herkkyys
3861	Sitraattikonsentraatti	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3862	Tartraattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3863	Asetaattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3864	Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
38615	Nopea granaatti-GBC-suola	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
2852	Hapan hematoksyliiniliuos	Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

Katso päivitetyt riski-, vaara- ja turvallisuustiedot käyttöturvallisuustiedotteesta ja tuotemerkinnöistä.

386A:



- H290 Voi syövyttää metalleja.
- H312 Haitallista joutuessaan iholle.
- H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.
- H331 Myrkyllistä hengitettynä.
- H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.
- H360 Saattaa vaurioittaa sikiötä.
- P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.
- P234 Säilytä alkuperäispakkauksessa.
- P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

P303 + P361 + P353 JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo iho vedellä.

P304 + P340 + P310 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

P305 + P351 + P338 JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista.

Jos tämän laitteen käytön aikana tai sen seurauksena ilmenee vakava vaaratilanne, ilmoita siitä valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle sekä kansalliselle viranomaiselle.

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaativuudenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Valtuutettu edustaja Sveitsissä		

Lähteet

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Jancik A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuiltamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Versiohistoria

Versio 2.0	2014
Versio 3.0	2016
Versio 4.0	2023

Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisätty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Käyttötarkoitus tarkistettu IVD-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosioista poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Poistettu lähde 4. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat. Lisätty CH-REP-tiedot.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

M-alkukirjain ja Sigma-Aldrich ovat Merck KGaA -yhtiön, Darmstadt, Saksa, tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä. Kaikki muut tavaramerkit ovat haltijoidensa omaisuutta. Yksityiskohtaiset tavaramerkkitiedot ovat saatavilla julkisista lähteistä.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Gebruiksaanwijzing

Leukocyten zure-fosfatasekit (TRAP)

Procedurenr. 386



Beoogd gebruik

Zure-fosfatasekits van Sigma-Aldrich zijn bedoeld als een algemene histologische kleurstof voor laboratoriumgebruik. Zure-fosfatase reagentia zijn uitsluitend bedoeld voor professioneel 'in-vitro diagnostisch gebruik'. Deze handmatige, kwalitatieve histochemische procedure toont de zure-fosfatase-activiteit aan in leukocyten van humaan bloed, beenmerg en 'tissue touch'-preparaten. Histologische visualisatie van leukocyten geassocieerde zure fosfatase is een unieke techniek die momenteel veel gebruikt wordt in de geneeskunde.

Het gebruik van gesubstitueerde naftol AS-fosfaten in combinatie met diazoniumzouten voor het aantonen van zure fosfatase in humane leukocyten werd voor het eerst gemeld door Goldberg en Barka.¹ De Sigma-Aldrich-procedure voor het aantonen van dit leukocytenenzym is gebaseerd op het gebruik van naftol AS-BI-fosfaat en fast garnet GBC-zout. De laatstgenoemde diazoverbinding werd geselecteerd omdat deze snel koppelt bij een zure pH, waarbij zeer onoplosbare kleurstofafzettingen worden gevormd. Er wordt wijnsteenzuur toegevoegd om de aanwezigheid van wijnsteenresistente zure fosfatase aan te tonen.

Volgens de Sigma-Aldrich-procedure worden bloedfilms geïncubeerd in een oplossing die naftol AS-BI-fosforzuur en fast garnet GBC bevat. Duplicaatfilms worden behandeld met L(+) -tartraathoudend substraat. Naftol AS-BI, dat vrijkomt door enzymatische hydrolyse, koppelt onmiddellijk met fast garnet GBC, waarbij onoplosbare kastanjebruine kleurstofafzettingen worden gevormd op de plaatsen van activiteit. Cellen die wijnsteenzuur gevoelig zure fosfatase bevatten zijn niet actief, terwijl mononucleaire cellen die wijnsteenzuurresistente fosfatase bevatten niet beïnvloed worden door een dergelijke behandeling.

Reagentia

Citraatconcentraat (cat. nr. 3861-20ML)

Citraatbuffer, 0,38 mol/L, pH 5,4 bij verdunning volgens procedure

Tartraatoplossing (cat. nr. 3862-20ML)

L(+) -tartraatbuffer, 0,67 mol/L, pH 5,2 bij verdunning volgens procedure

Acetaatoplossing (cat. nr. 3863-50ML)

Acetaatbuffer, 2,5 mol/L, pH 5,2 bij verdunning volgens procedure

Naftol AS-BI-fosforzuuroplossing (cat. nr. 3864-40ML)

Naftol AS-BI-fosforzuur, 12,5 mg/mL, in N,N'-dimethylformamide. Gevaar. Schadelijk bij contact met de huid. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Schadelijk bij inademing. Kan het ongeboren kind schaden. Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding. BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spoelen.

Fast garnet GBC-zout (cat. nr. 38615-10CAP)

Fast garnet GBC-zout, gezuiverd, 15 mg/capsule, C.I. 37210. Gevaar. Kan kanker veroorzaken: Alvorens te gebruiken, de speciale aanwijzingen raadplegen. BIJ blootstelling of ongerustheid: Vraag medisch advies/medische hulp.

Zure hematoxyline-oplossing (cat. nr. 2852-100ML)

Hematoxyline, gecertificeerd, 1 g/L, C.I. 75290, natriumjodaat, aluminiumammoniumsulfaat en stabilisatoren, pH 3,3 bij 25 °C.

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Aceton, ACS-reagens
- Waterbad 37 °C

Opslag en stabiliteit

Bewaar citraatconcentraat, tartraatoplossing en acetaatoplossing in de koelkast (2-8 °C). Gooi weg als er troebelheid ontstaat.

Bewaar fast garnet GBC-zout en naftol AS-BI-fosforzuuroplossing in de koelkast (2-8 °C). De kleur van naftol AS-BI-fosforzuuroplossing kan variëren van lichtgeel tot donkergeel. Reagentia zijn stabiel tot de vervaldatum op de flesjes.

Bewaar zure hematoxyline-oplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C). Gooi weg als de tijd voor geschikte kleuring de in de procedure aanbevolen tijd met meer dan 5 minuten overschrijdt.

Verdunde citraatoplossing is geschikt voor gebruik in afwezigheid van microbiële groei.

Citraat/aceton-oplossing moet goed afgesloten worden bewaard wanneer het niet wordt gebruikt. Dagelijks vers bereiden.

Voorbereiding

Verdunde citraatoplossing wordt bereid door 2,0 mL citraatconcentraat toe te voegen aan 18,0 mL water.

De citraat/aceton-oplossing wordt bereid door 20,0 mL verdunde citraatoplossing toe te voegen aan 30,0 mL aceton.

OPMERKING: De citraat/aceton-oplossing moet goed afgesloten worden bewaard wanneer het niet wordt gebruikt. Dagelijks vers bereiden.

Voorzorgsmaatregelen

Deze IVD's zijn bedoeld voor in-vitro diagnostisch gebruik in een klinische laboratoriumomgeving. Deze IVD's zijn uitsluitend bestemd voor professioneel gebruik door gekwalificeerd personeel. IVD's van Sigma-Aldrich mogen bediend worden door laboratoriumpersoneel dat opgeleid is om om te gaan met humane monsters die infectieus kunnen zijn, microscopen en andere laboratoriumapparatuur te gebruiken en met voldoende kleurwaarneming en gezichtsscherpte om kleuren en andere objecten onder een microscoop te onderscheiden.

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voor afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Procedure

Monsterafname

Geen enkele bekende testmethode kan volledige zekerheid bieden dat bloedmonsters of weefsels geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloedderivaten of weefselmonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Bloed, beenmergfilms, 'tissue touch'-preparaten en cytocentrifugepreparaten kunnen worden gebruikt. EDTA of heparine dient als antistollingsmiddel. Bloed of beenmergfilms kunnen gefixeerd bij kamertemperatuur (18-26 °C) enkele weken of ongefixeerd enkele dagen worden bewaard zonder merkbare verandering in activiteit.² Verstuur geen volbloed voor analyse naar andere laboratoria. Verstuur gefixeerde of niet-gefixeerde glaasjes. De glaasjes moeten koel worden bewaard tijdens transport. Laat de films ten minste 1 uur drogen vóór fixatie.

Opmerkingen

De prestaties van de test kunnen worden gecontroleerd door ook bloedfilms van een gezonde persoon te testen. In afwezigheid van wijnsteenzuur vertonen alle leukocyten locaties met granulaire activiteit. Bij incubatie met tartraat kan af en toe een granule worden waargenomen in lymfocyten, maar alle andere normaal voorkomende cellen vertonen geen activiteit.

Procedure

Fixatie

- Fixeer het objectglaasje 30 seconden in citraat/aceton-oplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C).
- Spoel de objectglaasjes in gede-ioniseerd water en laat ze minstens 15 minuten aan de lucht drogen.

Kleuring

- Label twee 100mL-bekerglazen A en B en voeg het volgende toe, waarbij de inhoud na elke toevoeging moet worden gemengd:

	Bekerglas A	Bekerglas B
Water, voorverwarmd tot 37 °C	46,0 mL	44,0 mL
Acetaatoplossing	2,0 mL	2,0 mL
Naftol AS-BI-fosforzuur	2,0 mL	2,0 mL
Tartraatoplossing	—	2,0 mL

- Voeg de inhoud van 1 capsule fast garnet GBC-zout toe aan elk bekerglas. Roer 30-60 seconden op een magnetische mixer.
- Filterre de oplossingen snel door Whatman® nr. 54 (of gelijkwaardig) papier in afzonderlijke, gelabelde kleurpotjes.
- Verwarm de oplossingen in kleurpotjes in een waterbad tot 37 °C. Controleer of de temperatuur 37 °C is alvorens de objectglaasjes toe te voegen.
- Plaats ten minste 2 geduplicateerde gefixeerde bloedfilms in elk potje met de gefiltreerde substraatoplossing.
- Incubeer de objectglaasjes 1 uur bij 37 °C in het donker.
- Verwijder de objectglaasjes en was ze 3 minuten in gede-ioniseerd water.
- Kleur de objectglaasjes 5 minuten in zure-hematoxylineoplossing.
- Spoel de objectglaasjes 3 minuten in gede-ioniseerd water en laat ze aan de lucht drogen.
- Evalueer microscopisch met een olie-immersie (900X). Het gebruik van inbedmiddelen op basis van oplosmiddelen wordt afgeraden, omdat deze kunnen leiden tot vervaging van de kleuring.

Prestatiekenmerken

Gekleurde bloedfilms worden meestal subjectief beoordeeld op de aan- of afwezigheid van tartraatresistent enzym. In afwezigheid van wijnsteenzuur vertonen de meeste leukocyten locaties met granulaire activiteit. Bij incubatie met tartraat kan een enkele granule worden waargenomen in lymfocyten en sommige gespecialiseerde macrofagen.³ In bloedsmears wordt een positieve reactie aangegeven door de aanwezigheid van meer dan twee cellen met diffuse en intense activiteit, d.w.z. meer dan 40 granula.³ Om Golgi-kleuring, kenmerkend voor van de thymus afgeleide lymfocyten (T-cellen), te beoordelen, wordt Sigma-Aldrich Procedurenr. 181 aanbevolen.

Zure-fosfataseactiviteit verschijnt als paarsachtige tot donkerrode granula in het cytoplasma van de meeste leukocyten.

Als de waargenomen resultaten afwijken van de verwachte resultaten, neem dan contact op met de technische dienst van Sigma-Aldrich voor assistentie.

Analytische prestatiekenmerken

De resultaten van de analytische prestaties voor de gegeven tests, uitgevoerd op alle doelstructuren, bevestigen 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat. nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
3861	Citraatconcentraat	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3862	Tartraatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3863	Acetaatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3864	Naftol AS-BI-fosforzuuroplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
38615	Fast garnet GBC-zout	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
2852	Zure-hematoxyline-oplossing	Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

Raadpleeg het veiligheidsinformatieblad en de etikettering van het product voor bijgewerkte informatie over risico's, gevaren of veiligheid.

386A:



- H290 Kan bijtend zijn voor metalen.
- H312 Schadelijk bij contact met de huid.
- H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.
- H331 Giftig bij inademing.
- H350 Kan kanker veroorzaken.
- H360 Kan het ongeboren kind schaden.
- P202 Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.
- P234 Uitsluitend in de oorspronkelijke verpakking bewaren.
- P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/ gezichtsbescherming.
- P303 + P361 + P353 BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.
- P304 + P340 + P310 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spoelen.

Als zich tijdens het gebruik van dit apparaat of als gevolg van het gebruik ervan een ernstig incident heeft voorgedaan, meld dit dan aan de fabrikant en/of zijn gemachtigde vertegenwoordiger en aan uw nationale autoriteit.

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

	Fabrikant		Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Batchcode
	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/ Europese Unie		Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum		Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Productiedatum		Importeur
	Geeft de bevoegde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

- 1. Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- 2. Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- 3. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Contactgegevens

Om een bestelling te plaatsen, bezoek onze website op [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website: [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Herzieningsgeschiedenis

Herz. 2.0	2014
Herz. 3.0	2016
Herz. 4.0	2023
Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Referentienummer 4 verwijderd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP informatie toegevoegd.	



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Navodila za uporabo

Komplet za levkocitno kisl fosfatazo (TRAP)

Postopek št. 386



Predvidena uporaba

Kompleti za kisl fosfatazo Sigma-Aldrich so namenjeni splošni laboratorijski uporabi za histološko barvanje. Reagenti kisle fosfataze so namenjeni samo za profesionalno »diagnostično uporabo in vitro«. Ta ročni, kvalitativni, histokemični postopek dokazuje aktivnost kisle fosfataze v levkocitih človeške krvi, kostnega mozga in tkivnih preparatov. Histološka vizualizacija z levkociti povezane kisle fosfataze je edinstvena tehnika, ki se trenutno pogosto uporablja v medicini.

O uporabi substituiranih naftol AS fosfatov v povezavi z diazonijevimi solmi za odkrivanje kisle fosfataze v človeških levkocitih sta prva poročala Goldberg in Barka.¹ Postopek Sigma-Aldrich za dokazovanje tega levkocitnega encima temelji na uporabi naftol AS-BI fosfata in hitrodelujoče soli Fast Garnet GBC. Slednja diazo spojina je bila izbrana, ker se pri kislem pH hitro spaja in tvori zelo netopne nanose barvila. Vinska kislina je uporabljena za dokazovanje prisotnosti kisle fosfataze, odporne proti tartratu.

V skladu s postopkom Sigma-Aldrich se krvni filmi inkubirajo v raztopini, ki vsebuje naftol AS-BI fosforno kislino in hitrodelujočo sol Fast Garnet GBC. Dvojni filmi so obdelani s substratom, ki vsebuje L(+)-tartrat. Naftol AS-BI, ki se sprosti z encimsko hidrolizo, se takoj poveže s hitrodelujočo soljo Fast Garnet GBC in na mestih aktivnosti tvori tope bordo nanose barvila. Celice, ki vsebujejo na vinko kislino občutljivo kisl fosfatazo, so brez aktivnosti, medtem ko na mononuklearne celice, ki vsebujejo proti vinski kislini odporno fosfatazo, takšna obdelava ne vpliva.

Reagenti

Citratni koncentrat (kat. št. 3861-20ML)
Citratni pufer, 0,38 mol/l, pH 5,4, če je razredčen po postopku

Raztopina tartrata (kat. št. 3862-20ML)
L(+)-tartratni pufer, 0,67 mol/l, pH 5,2, če je razredčen po postopku

Raztopina acetata (kat. št. 3863-50ML)
Acetatni pufer, 2,5 mol/l, pH 5,2, če je razredčen po postopku

Raztopina naftol AS-BI fosforne kisline (kat. št. 3864-40ML)
Naftol AS-BI fosforna kislina, 12,5 mg/ml, v N,N'-dimetilformamidu. Nevarno. Zdravju škodljivo v stiku s kožo. Povzroča hudo draženje oči. Škodljivo pri vdihavanju. Lahko škoduje nerojenemu otroku. Nosite zaščitne rokavice/zaščitna oblačila. PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

Sol Fast Garnet GBC (kat. št. 38615-10CAP)
Sol Fast garnet GBC, prečiščena, 15 mg/kapsulo, C.I. 37210. Nevarno. Lahko povzroči nastanek raka: Pred uporabo pridobite posebna navodila. PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poišcite zdravniško pomoč/oskrbo.

Kisla raztopina hematoksilina (kat. št. 2852-100ML)
Hematoksilin, certificiran, 1 g/l, C.I. 75290, natrijev jodat, aluminij-amonijev sulfat in stabilizatorji, pH 3,3 pri 25 °C.

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Aceton, reagent ACS
- Vodna kopel s temperaturo 37 °C

Shranjevanje in stabilnost

Koncentrat citrata, raztopino tartrata in raztopino acetata hranite v hladilniku (2–8 °C). Če se pojavi motnost, zavržite.

Sol Fast Garnet GBC in naftol AS-BI fosforno kislino hranite v hladilniku (2–8 °C). Barva naftol AS-BI fosforne kisline je lahko od blede do temno rumene. Reagenti so stabilni do izteka roka uporabnosti, ki je naveden na stekleničkah.

Kislo raztopino hematoksilina shranjujte pri sobni temperaturi (18–26 °C). Zavržite, če je čas za ustrezno obarvanje daljši od časa, priporočenega v postopku, za več kot 5 minut.

Razredčena raztopina citrata je primerna za uporabo, če ni vidne rasti mikrobov. Raztopino citrata/acetona je treba hraniti trdno zaprto, kadar se ne uporablja. Vsak dan pripravite sveže.

Priprava

Razredčeno raztopino citrata se pripravi tako, da se v 18,0 ml vode doda 2,0 ml citratnega koncentrata.

Raztopino citrata in acetona se pripravi tako, da se 20,0 ml razredčene raztopine citrata doda 30,0 ml acetona.

OPOMBA: Ko raztopine citrata/acetona ne uporabljate, jo hranite trdno zaprto. Vsak dan pripravite sveže.

Previdnostni ukrepi

Ti izdelki IVD so namenjeni za diagnostično uporabo in vitro v kliničnem laboratoriju. Ti izdelki IVD so namenjeni le strokovni uporabi s strani usposobljenega osebja. Z napravami Sigma-Aldrich IVD lahko upravlja laboratorijsko osebje, ki je usposobljeno za ravnanje s človeškimi vzorci, ki so lahko kužni, za uporabo mikroskopov in druge laboratorijske opreme ter ima sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

Upoštevati je treba običajne previdnostne ukrepe pri ravnanju z laboratorijskimi reagenti. Odpadke odstranite v skladu z vsemi lokalnimi, državnimi, pokrajinskimi ali nacionalnimi predpisi.

Postopek

Zbiranje vzorcev

Nobena znana testna metoda ne more dati popolnega zagotovila, da vzorci krvi ali tkiva ne bodo prenesli okužbe. Zato je treba vse krvne derivate ali tkivne vzorce obravnavati kot potencialno kužne.

Uporabljajo se lahko kri, filmi kostnega mozga, tipalni preparati tkiva in preparati iz citocentrifuge. EDTA ali heparin sta antikoagulant. Filmi krvi ali kostnega mozga se lahko hranijo fiksirani pri sobni temperaturi (18–26 °C) več tednov ali nefiksirani več dni brez opazne spremembe aktivnosti.² Polne krvi ne pošiljajte za testiranje v druge laboratorije. Pošljite fiksirana ali nefiksirana stekelca. Stekelca je treba med prevozom hraniti na hladnem. Pred fiksacijo pustite filme, da se sušijo vsaj 1 uro.

Opombe

Učinkovitost testa je mogoče spremljati z vključitvijo krvnih filmov, pridobljenih pri zdravem posamezniku. Ob odsotnosti vinske kisline imajo vsi levkociti zrnata mesta aktivnosti. Pri inkubaciji s tartratom se lahko v limfocitih opazi občasne granule, vendar so vse druge normalno prisotne celice brez aktivnosti.

Postopek

Fiksiranje

1. Stekelce za 30 sekund fiksirajte v raztopini citrata/acetona pri sobni temperaturi (18–26 °C).
2. Stekelca sperite v deionizirani vodi in pustite, da se sušijo na zraku vsaj 15 minut.

Barvanje

1. Dve čaši s prostornino 100 ml označite kot A in B ter dodajte naslednje snovi, pri čemer po vsakem dodajanju premešajte:

	Čaša A	Čaša B
Voda, predhodno segreta na 37 °C	46,0 ml	44,0 ml
Raztopina acetata	2,0 ml	2,0 ml
Naftol AS-BI fosforna kislina	2,0 ml	2,0 ml
Raztopina tartrata	–	2,0 ml

2. V vsako čašo dodajte vsebino 1 kapsule soli Fast Garnet GBC. Mešajte z magnetnim mešalnikom 30–60 sekund.
3. Raztopine hitro filtrirajte skozi papir Whatman® št. 54 (ali enakovreden) v ločene označene kozarce za barvanje.
4. Raztopine v kozarcih za barvanje segrejte na 37 °C v vodni kopeli. Pred dodajanjem preparatov preverite, ali je temperatura 37 °C.
5. V vsako posodo s filtrirano raztopino substrata dajte vsaj 2 dvojnika fiksiranih krvnih filmov.
6. Stekelca inkubirajte 1 uro pri 37 °C v temi.
7. Odstranite stekelca in jih 3 minute umivajte v deionizirani vodi.
8. Barvajte v kisli raztopini hematoksilina 5 minut.
9. Stekelca 3 minute spirajte v deionizirani vodi in jih osušite na zraku.
10. Ocenite mikroskopsko z objektivom (900X) za potopitev v olje. Uporaba sredstev za fiksiranje na osnovi topil ni priporočljiva, saj lahko povzročijo bledenje madežev.

Značilnosti delovanja

Obarvani krvni filmi se običajno subjektivno ocenijo glede na prisotnost ali odsotnost encima, odpornega proti tartratu. Ob odsotnosti vinske kisline ima večina levkocitov zrnata mesta aktivnosti. Pri inkubaciji s tartratom se lahko v limfocitih in nekaterih specializiranih makrofagih opazi občasno granul.³ V krvnih razmazih je pozitivna reakcija označena s prisotnostjo več kot dveh celic z razpršeno in intenzivno aktivnostjo, tj. več kot 40 granul.³ Za oceno barvanja po Golgiju, značilnega za limfocite iz timusa (celice T), se priporoča postopek Sigma-Aldrich št. 181.

Aktivnost kisle fosfataze se v citoplazmi večine levkocitov pojavi v obliki vijoličastih do temno rdečih zrc.

Če opaženi rezultati odstopajo od pričakovanih, se za pomoč obrnite na oddelek za tehnično pomoč podjetja Sigma-Aldrich.

Značilnosti analitične učinkovitosti

Rezultati analitične učinkovitosti za dane teste, opravljene na vseh ciljnih strukturah, potrjujejo 100-odstotno občutljivost, specifičnost in ponovljivost.

Kat. št.	Opis izdelka	Cilj	Specifičnost znotraj testa	Občutljivost znotraj testa	Specifičnost med testi	Občutljivost med testi
3861	Koncentrat citrata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3862	Raztopina tartrata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3863	Raztopina acetata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3864	Raztopina naftol AS-BI fosforne kisline	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
38615	Sol Fast Garnet GBC	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
2852	Kisla raztopina hematoksilina	Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

Vse posodobljene informacije o tveganju, nevarnosti ali varnosti najdete na varnostnem listu in oznaki izdelka.

386A:



- H290 Lahko je jedko za kovine.
- H312 Zdravju škodljivo v stiku s kožo.
- H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- H331 Strupeno pri vdihavanju.
- H350 Lahko povzroči raka.
- H360 Lahko škoduje nerojenemu otroku.
- P202 Ne uporabljajte, dokler se ne seznanimate z vsemi varnostnimi ukrepi.
- P234 Hraniti samo v originalni embalaži.
- P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P303 + P361 + P353 PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.
- P304 + P340 + P310 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P305 + P351 + P338 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

Če je med uporabo te naprave ali kot posledica njene uporabe prišlo do resnega incidenta, o tem obvestite proizvajalca in/ali njegovega pooblaščenega zastopnika ter ustrezen državni organ.

Definicije simbolov

Simboli, kot so opredeljeni v standardu EN ISO 15223-1:2021

	Proizvajalec		Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo		Koda serije
	Pooblaščen zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji		Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe		Medicinski diagnostični pripomoček in vitro
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

- 1. Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- 2. Jancikila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- 3. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Zgodovina revizij

Rev. 2.0	2014
Rev. 3.0	2016
Rev. 4.0	2023

Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Revidiran je namen uporabe za usklajitev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Odstranjena je referenca številka 4. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodane so bile informacije o zastopniku v Švici.



Sigma-Aldrich, Inc.,
3050 Spruce Street,
St. Louis, MO 63103 USA
an affiliate of Merck KGaA,
Darmstadt, Germany
+1(314) 771-5765



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Začetna črka M in Sigma-Aldrich sta blagovni znamki družbe Merck KGaA, Darmstadt, Nemčija ali njenih pridruženih družb. Vse druge blagovne znamke so last posameznih lastnikov. Podrobne informacije o blagovnih znamkah so na voljo v javno dostopnih virih.

© 2023 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All rights reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.