

Instructions for Use

Lymphocyte α -Naphthyl Butyrate Esterase Kit

Procedure No. 181



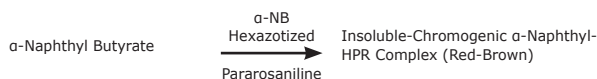
Intended Use

Lymphocyte α -Naphthyl Butyrate Esterase Kit is intended for use as a general laboratory histochemical stain for the detection of α -naphthyl butyrate esterase in blood, bone marrow films and tissue touch preparations. Lymphocyte α -Naphthyl Butyrate Esterase Kit is for "In Vitro Diagnostic Use." For professional use only. The data obtained from this manual, qualitative procedure serves only as an aid to diagnosis of human specimens and should be reviewed in conjunction with other clinical diagnostic tests or information.

The reaction listed below for α -Naphthyl Butyrate Esterase will also demonstrate nonspecific esterase activity in monocytes and macrophages. Several different methods are available for this purpose. The method listed below is not specific for monocytes and macrophages since the pH of the incubating media has been adjusted to demonstrate a focal (dot) staining pattern in some lymphocytes. The α -Naphthyl Butyrate Esterase is less sensitive than the α -Naphthyl Acetate Esterase procedure. For procedures more sensitive to monocytes Sigma offers two Esterase kits, Catalog Nos. 90A1 and 91A. These kits also include instructions for the demonstration of α -naphthyl acetate esterase with fluoride inhibition.

According to Sigma-Aldrich techniques, cytocentrifuge preparations or films are fixed in a citrate-acetone-formaldehyde solution. α -Naphthyl butyrate esterase is then visualized by the following simultaneous capture principles.

α -Naphthyl Butyrate Esterase



Reagents

α -Naphthyl Butyrate Solution (Cat. No. 1801-50ML)

α -Naphthyl Butyrate, 2.4 g/L, in methanol solution with solubilizers

Pararosaniline Solution (Cat. No. 1804-15ML)

Pararosaniline, 40 g/L, C.I. 42500, in 2 mol/L hydrochloric acid. Danger. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation. May cause respiratory irritation. May cause cancer. Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray.

Sodium Nitrite Tablets (Cat. No. 1809-10TAB)

Sodium nitrite, 250-260 mg per tablet. Danger. May intensify fire; oxidizer. Toxic if swallowed. Causes serious eye irritation. Very toxic to aquatic life. Keep/store away from clothing/combustible materials. Avoid release to the environment. IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.

Citrate Solution (Cat. No. 915-50ML)

Citric acid, 18 mmol/L, sodium citrate, 9 mmol/L, sodium chloride, 12 mmol/L, and surfactant. The pH should be 3.6 ± 0.1 .

Phosphate Buffer (Cat. No. 1805-1VL)

Sodium phosphate, 59.6 mM, potassium phosphate, 7.1 mM.

Methylene Blue Solution (Cat. No. 1808-50ML)

Methylene blue, C.I. 52015, 1.4% (w/v) in 95% ethanol

Special Materials Required but Not Provided

- Acetone, ACS Reagent
- Formaldehyde, 37%
- Water bath capable of maintaining 37°C shielded from light

Storage and Stability

Store α -Naphthyl Butyrate Solution in freezer below 0°C. Warm solution to 37°C and mix well prior to use. Discard if reagents turn yellow or if precipitate forms.

Store Pararosaniline Solution, Phosphate Buffer, Sodium Nitrite Tablets and Methylene Blue Solution at room temperature (18–26°C) protected from light.

Store Sodium Nitrite Tablet Solution and Phosphate Buffer Solution refrigerated (2–8°C).

Reagent labels bear expiration date.

Citrate Solution is suitable for use in the absence of microbial growth.

Deterioration

Discard α -Naphthyl Butyrate Solution if reagent turn bright yellow or if precipitate forms.

Discard Pararosaniline Solution if solution does not turn amber upon addition of Sodium Nitrite Tablets Solution.

Phosphate Buffer Solution should be discarded if turbidity develops.

Preparation

Warm α -Naphthyl Butyrate Solution to 37°C. Sodium Nitrite Tablet Solution, 4 g/dL is prepared by dissolving 1 tablet in 6.25 mL deionized water. Store this solution tightly stoppered at 2–8°C. Warm to room temperature before use. Discard if turbidity develops.

Phosphate Buffer Solution is prepared by dissolving contents of Phosphate Buffer in 500 mL deionized water. Buffer has concentration of 0.067 mol/L, pH 7.7 at 25°C. Store in refrigerator (2–8°C). Discard if microbial growth is evident.

Note

Microbial growth may be retarded by filtration through a 0.22 micron Filter Unit.

Methylene Blue Counterstain is prepared by adding 5 mL Methylene Blue Solution to 45 mL deionized water. Mix well. Prepare fresh daily.

Citrate-Acetone-Formaldehyde Fixative: To 25 mL Citrate Solution add 65 mL Acetone and 8 mL of 37% Formaldehyde. Place in glass bottle and cap tightly. Store in refrigerator (2–8°C). Warm to 18–26°C prior to use. Stable if stored tightly capped in refrigerator.

Precautions

The IVDs included in this kit 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.

Samples may be collected in either EDTA or heparin. After fixation slides may be stored at room temperature for at least 2 weeks. If mononuclear cells are to be isolated using HISTOPAQUE®-1077, separation should be performed within 4 hours although fair recovery has been noted after 24 hours. Blood films, particularly from leukopenic individuals, are not recommended for these procedures since evaluation of this material is quite time consuming. Cytocentrifuge or buffy coat preparations should be employed. Bone marrow films and tissue touch preparations pose no problems with respect to microscopic evaluation.

Notes

Cells from healthy donors should be included with each test.

Cells isolated on polysucrose-sodium diatrizoate gradients may be stored in liquid nitrogen (LN₂) for control purposes. To accomplish this, $1 \times 10^7 - 10^8$ cells are frozen at $1 \pm 0.3^\circ\text{C}$ per minute in a medium containing 50% fetal calf serum, 40% RPMI-1640 (or other appropriate tissue culture fluids) and 10% dimethylsulfoxide (DMSO). They may be stored in either the liquid or vapor phase of LN₂.

Slides should be evaluated using 1000X magnification. Didymium filters may enhance color particularly of the diffuse staining α -NB.

Procedure

1. Prewarm Phosphate Buffer Solution to 37°C.
2. Immediately prior to fixation, add 1.5 mL of Sodium Nitrite Tablet Solution to 1.5 mL Pararosaniline Solution. Mix gently by inversion and let stand at least 5 minutes, then add to 40 mL of prewarmed Phosphate Buffer Solution.
3. Add 5 mL α -Naphthyl Butyrate Solution.
4. Mix well and pour into Coplin jar. Solution will be amber. Formation of precipitate indicates reagent deterioration.
5. Fix slides for 10 seconds in Citrate-Acetone-Formaldehyde Fixative at room temperature (18–26°C). Rinse in deionized water for 45 seconds. Do not allow slides to dry.
6. Immediately after rinsing, place slides into solution from Step 4 and incubate 1 hour at 37°C. **Note:** If slides are not placed in incubation solution after fixation, they must be allowed to air dry for at least 45 minutes.
7. After 1 hour remove slides from Coplin jar and rinse 2–3 minutes in running tap water. Discard staining solution.
8. Allow slides to air dry at least 15 minutes before counterstaining.
9. Counterstain 5 minutes in Methylene Blue Counterstain.
10. Rinse in deionized water.

Performance Characteristics

The focal (dot) staining pattern observed in some lymphocytes is associated with mature T-cells bearing Fc receptors for IgM. This subset overlaps the T-helper cell population to some extent but is not an accurate measure of helper function. The diffuse or granular staining lymphocytes bear receptors to the Fc portion of IgG and overlap to some extent the T suppressor cell population.

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
1801	α -Naphthyl Butyrate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
1804	Pararosaniline Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
1809	Sodium Nitrite Tablets	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
915	Citrate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
1805	Phosphate Buffer	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
1808	Methylene Blue Solution	Sites of Activity	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.



- H226 Flammable liquid and vapor.
- H272 May intensify fire, oxidizer.
- H290 May be corrosive to metals.
- H301 Toxic if swallowed.
- H312 + H332 Harmful in contact with skin or if inhaled.
- H315 Causes skin irritation.
- H319 Causes serious eye irritation.
- H335 May cause respiratory irritation.
- H350 May cause cancer.
- H370 Causes damage to organs (Eyes).
- H400 Very toxic to aquatic life.
- P210 Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P273 Avoid release to the environment.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P301 + P310 IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P312 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.

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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Moved aid to diagnosis statement to intended use. 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. Added Warnings and Hazards. Removed references to 181A kit. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Anweisungen für den Gebrauch

Lymphozyten- α -Naphthylbutyrate-esterase-Kit

Verfahren Nr. 181



Verwendungszweck

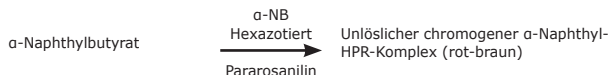
Das Lymphozyten- α -Naphthylbutyrate-esterase-Kit ist als allgemeines histochemisches Färbemittel für den Laborgebrauch zum Nachweis von α -Naphthylbutyrate-esterase in Blut, Knochenmarksausstrichen und Gewebetupfpräparaten bestimmt.

Das Lymphozyten- α -Naphthylbutyrate-esterase-Kit ist für die „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Die mit diesem manuellen qualitativen Verfahren gewonnenen Daten dienen lediglich als Hilfsmittel für die Diagnose menschlicher Proben und sollten in Verbindung mit anderen klinischen Diagnosetests oder Informationen überprüft werden.

Die nachfolgend aufgeführte Reaktion für α -Naphthylbutyrate-esterase zeigt auch eine unspezifische Esterase-Aktivität in Monozyten und Makrophagen. Für diesen Einsatzzweck stehen mehrere verschiedene Methoden zur Verfügung. Die nachfolgend aufgeführte Methode ist nicht spezifisch für Monozyten und Makrophagen, da hier der pH-Wert des Inkubationsmediums angepasst wurde, um bei bestimmten Lymphozyten ein fokales (punktförmiges) Anfärbemuster zu erzeugen. Das Verfahren mit α -Naphthylbutyrate-esterase ist weniger empfindlich als das Verfahren mit α -Naphthylacetate-esterase. Zur Durchführung von Verfahren, die empfindlicher auf Monozyten reagieren, bietet Sigma zwei Esterase-Kits an, Katalog-Nrn. 90A1 und 91A. Diese Kits enthalten auch Anweisungen für den Nachweis von α -Naphthylacetate-esterase mittels Fluoridhemmung.

Entsprechend den Techniken von Sigma-Aldrich werden Zytocentrifugenpräparate bzw. -ausstriche in einer Citrat-Aceton-Formaldehyd-Lösung fixiert. α -Naphthylbutyrate-esterase wird dann durch die folgenden simultanen Aufnahmeverfahren sichtbar gemacht.

α -Naphthylbutyrate-esterase



Reagenzien

α -Naphthylbutyrat-Lösung (Kat.-Nr. 1801-50ML)

α -Naphthylbutyrat, 2,4 g/l, in Methanol-Lösung mit Lösungsvermittlern

Pararosinilin-Lösung (Kat.-Nr. 1804-15ML)

Pararosinilin, 40 g/l, C.I. 42500, in 2 mol/l Salzsäure. Gefahr. Verursacht Hautreizungen.

Verursacht schwere Augenreizungen. Kann die Atemwege reizen. Kann Krebs erzeugen.

Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dämpfe/Spray möglichst nicht einatmen.

Natriumnitrit-Tabletten (Kat.-Nr. 1809-10TAB)

Natriumnitrit, 250–260 mg pro Tablette. Gefahr. Kann Feuer verstärken; Oxidationsmittel. Giftig bei Verschlucken. Verursacht schwere Augenreizungen. Sehr giftig für Wasserorganismen. Von Kleidung/brennbaren Materialien fernhalten/entfernt lagern. Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden. BEI VERSCHLÜCKEN: Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.

Citratlösung (Kat.-Nr. 915-50ML)

Zitronensäure, 18 mmol/l, Natriumcitrat, 9 mmol/l, Natriumchlorid, 12 mmol/l und Tensid. Der pH-Wert sollte 3,6 $\pm$ 0,1 betragen.

Phosphatpuffer (Kat.-Nr. 1805-1VL)

Natriumphosphat, 59,6 mM, Kaliumphosphat, 7,1 mM.

Methylenblaulösung (Kat.-Nr. 1808-50ML)

Methylenblau, C.I. 52015, 1,4 % (w/v) in 95%igem Ethanol

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

- Aceton, ACS-Reagenz
- Formaldehyd, 37 %
- Wasserbad zur Aufrechterhaltung einer Temperatur von 37 °C, vor Licht geschützt

Lagerung und Stabilität

α -Naphthylbutyrat-Lösung im Gefrierschrank bei einer Temperatur von unter 0 °C lagern. Die Lösung auf 37 °C erwärmen und vor der Verwendung gut mischen. Die Lösung verwerfen, wenn sich die Reagenzien gelb verfärben oder sich ein Niederschlag bildet.

Pararosinilin-Lösung, Phosphatpuffer, Natriumnitrit-Tabletten und Methylenblaulösung bei Raumtemperatur (18–26 °C) und vor Licht geschützt lagern.

Die aus Natriumnitrit-Tabletten hergestellte Lösung und die Phosphatpuffer-Lösung gekühlt aufbewahren (2–8 °C).

Die Etiketten der Reagenzien tragen das Verfallsdatum.

Die Citratlösung kann verwendet werden, wenn kein mikrobielles Wachstum vorhanden ist.

Zerfall

Die α -Naphthylbutyrat-Lösung verwerfen, wenn sich das Reagenz hellgelb färbt oder sich ein Niederschlag bildet.

Die Pararosinilin-Lösung verwerfen, wenn sich die Lösung bei Zugabe der aus Natriumnitrit-Tabletten hergestellten Lösung nicht bernsteinfarben färbt.

Die Phosphatpufferlösung ist bei Auftreten von Trübungen zu entsorgen.

Vorbereitung

Die α -Naphthylbutyrat-Lösung auf 37 °C erwärmen. Die Natriumnitrit-Lösung aus Tabletten, 4 g/dl wird durch Auflösen von 1 Tablette in 6,25 ml entionisiertem Wasser hergestellt. Diese Lösung bei 2–8 °C dicht verschlossen aufbewahren. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen. Bei Entstehung von Trübungen entsorgen.

Die Phosphatpufferlösung durch Auflösen des Phosphatpuffers in 500 ml entionisiertem Wasser herstellen. Der Puffer hat eine Konzentration von 0,067 mol/l und besitzt bei 25 °C einen pH-Wert von 7,7. Im Kühlschrank aufbewahren (2–8 °C). Bei offensichtlichem mikrobiellem Wachstum entsorgen.

Hinweis

Das mikrobielle Wachstum kann durch die Filtration über einen 0,22-Mikron-Filter verzögert werden.

Die Methylenblau-Gegenfärbung wird durch Zugabe von 5 ml Methylenblaulösung zu 45 ml entionisiertem Wasser hergestellt. Gut mischen. Täglich frisch zubereiten.

Citrat-Aceton-Formaldehyd-Fixiermittel: 25 ml Citratlösung mit 65 ml Aceton und 8 ml 37%iger Formaldehydlösung versetzen. In eine Glasflasche füllen und fest verschließen. Im Kühlschrank aufbewahren (2–8 °C). Vor dem Gebrauch auf 18–26 °C erwärmen. Stabil, wenn die Lagerung fest verschlossen im Kühlschrank erfolgt.

Vorsichtsmaßnahmen

Die in diesem Kit enthaltenen 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.

Die Proben können sowohl mit EDTA als auch mit Heparin entnommen werden. Nach der Fixierung können die Objektträger mindestens 2 Wochen bei Raumtemperatur aufbewahrt werden. Bei der Isolierung von mononukleären Zellen mit HISTOPAQUE®-1077 sollte die Separation innerhalb von 4 Stunden durchgeführt werden, obgleich auch nach 24 Stunden eine ausreichende Ausbeute erzielt wurde.¹ Blutaussstriche sind, insbesondere bei Personen mit Leukopenie, für diese Verfahren nicht zu empfehlen, da die Auswertung des Materials zeitintensiv ist. Es sollten Zytocentrifugen oder Buffy-Coat-Präparate verwendet werden. Knochenmarksausstriche und Gewebetupfpräparate sind für die mikroskopische Auswertung problemlos geeignet.

Anmerkungen

Bei jedem Test sollten auch Zellen von gesunden Spendern untersucht werden.

Auf Polysaccharose-Natriumdiatrizoat-Gradienten isolierte Zellen können zu Kontrollzwecken in flüssigem Stickstoff (LN₂) gelagert werden. Dazu werden 1 x 10⁷ - 10⁸ Zellen mit einer Geschwindigkeit von 1 $\pm$ 0,3 °C pro Minute in einem Medium eingefroren, das aus 50 % fetalem Kälberserum, 40 % RPMI-1640 (oder einer anderen geeigneten Gewebekulturflüssigkeit) und 10 % Dimethylsulfoxid (DMSO) besteht. Sie können in flüssigem oder dampfförmigem LN₂ aufbewahrt werden.

Die Objektträger sollten mit einer 1000-fachen Vergrößerung ausgewertet werden. Dydimium-Filter können die Farbe insbesondere einer diffusen α -NB-Färbung verstärken.

Verfahren

1. Die Phosphatpufferlösung auf 37 °C erwärmen.
2. Unmittelbar vor der Fixierung 1,5 ml der Lösung einer Natriumnitrit-Tablette zu 1,5 ml Pararosinilin-Lösung hinzufügen. Die Lösung vorsichtig durch Schwenken mischen und mindestens 5 Minuten stehen lassen. Anschließend zu 40 ml vorgewärmter Phosphatpufferlösung geben.
3. 5 ml α -Naphthylbutyrat-Lösung hinzufügen.
4. Gut mischen und in einen Coplin-Färbetrog geben. Die Lösung erscheint bernsteinfarben. Die Bildung eines Niederschlags ist ein Zeichen für den Zerfall der Reagenzien.
5. Die Objektträger für 10 Sekunden bei Raumtemperatur (18–26 °C) in einem Citrat-Aceton-Formaldehyd-Fixiermittel fixieren. 45 Sekunden mit entionisiertem Wasser abspülen. Die Objektträger nicht trocknen lassen.
6. Die Objektträger direkt nach dem Abspülen in die Lösung aus Schritt 4 legen und anschließend für 1 Stunde bei 37 °C inkubieren. **Hinweis:** Werden die Objektträger nach der Fixierung nicht in die Inkubationslösung gelegt, müssen sie mindestens 45 Minuten an der Luft trocknen.
7. Die Objektträger nach 1 Stunde aus dem Coplin-Färbetrog entnehmen und 2–3 Minuten unter fließendem Leitungswasser abspülen. Die Färbelösung entsorgen.
8. Die Objektträger vor der Gegenfärbung mindestens 15 Minuten an der Luft trocknen lassen.
9. Für 5 Minuten in der Methylenblau-Gegenfärbung gegenfärben.
10. Mit deionisiertem Wasser abspülen.

Leistungsmerkmale

Das bei einigen Lymphozyten zu beobachtende fokale (punktförmige) Anfärbemuster wird mit reifen T-Zellen in Verbindung gebracht, die einen Fc-Rezeptor für IgM tragen. Diese Untergruppe überschneidet sich bis zu einem gewissen Grad mit der Population der T-Helferzellen. Dies ist jedoch kein genaues Maß für die Funktion der Helferzellen. Die diffus oder granular gefärbten Lymphozyten verfügen über Rezeptoren für den Fc-Teil von IgG und haben eine gewisse Überschneidung mit der T-Suppressorzellpopulation.

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
1801	α-Naphthylbutyrat-Lösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
1804	Pararosanilin-Lösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
1809	Natriumnitrit-Tabletten	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
915	Citratlösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
1805	Phosphatpuffer	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
1808	Methylenblaulösung	Bereiche der Aktivität	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.



- H226 Entzündliche Flüssigkeit und Dampf.
- H272 Kann Feuer verstärken; Oxidationsmittel.
- H290 Kann ätzend auf Metalle wirken.
- H301 Giftig bei Verschlucken.
- H312 + H332 Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt oder beim Einatmen.
- H315 Verursacht Hautreizungen.
- H319 Verursacht schwere Augenreizungen.
- H335 Kann die Atemwege reizen.
- H350 Kann Krebs erzeugen.
- H370 Verursacht Schäden an den Organen (Augen).
- H400 Sehr giftig für Wasserorganismen.
- P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten.
- P273 Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P301 + P310 BEI VERSCHLUCKEN: Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P312 BEIM EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.

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. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorie

Rev. 3.0	2014	
Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2023	Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Die Aussage über die Hilfe bei der Diagnose wurde in den Verwendungszweck verschoben. 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. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. Die Verweise auf 181A-Kit wurden entfernt. 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

Mode d'emploi

Kit α -naphthyl butyrate estérase lymphocytaire

Procédure n° 181



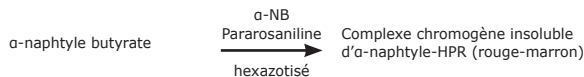
Utilisation prévue

Le kit α -naphthyl butyrate estérase lymphocytaire est destiné à être utilisé comme coloration histochimique générale de laboratoire pour la détection de l' α -naphthyl butyrate estérase dans le sang, les frottis de moelle osseuse et les empreintes tissulaires. Le kit α -naphthyl butyrate estérase lymphocytaire est destiné à un « usage en diagnostic *in vitro* ». Réservé à un usage professionnel. Les données obtenues avec cette procédure qualitative manuelle servent uniquement d'aide au diagnostic d'échantillons humains et doivent être examinées en association avec d'autres tests de diagnostic clinique et d'autres informations.

La réaction illustrée ci-dessous pour l' α -naphthyl butyrate estérase mettra également en évidence une activité estérase non spécifique dans les monocytes et les macrophages. Plusieurs méthodes différentes sont disponibles à cet effet. La méthode décrite ci-dessous n'est pas spécifique aux monocytes et aux macrophages, car le pH du milieu d'incubation a été ajusté pour mettre en évidence un profil de coloration localisé (points) dans certains lymphocytes. La procédure pour l' α -naphthyl butyrate estérase est moins sensible que celle pour l' α -naphthyl acétate estérase. Pour les procédures plus sensibles aux monocytes, Sigma propose deux kits pour l'estérase, réf. 90A1 et 91A. Ces kits comprennent également des instructions pour la mise en évidence de l' α -naphthyl acétate estérase avec inhibition par le fluorure.

Selon les techniques de Sigma-Aldrich, les préparations ou les frottis obtenus par cyto centrifugation sont fixés dans une solution de citrate-acétone-formaldéhyde. L' α -naphthyl butyrate estérase est ensuite visualisée par les principes de capture simultanée suivants.

α -naphthyl butyrate estérase



Réactifs

Solution d' α -naphthyl butyrate (réf. 1801-50ML)

α -naphthyl butyrate, 2,4 g/l, dans une solution de méthanol avec des agents solubilisants.

Solution de pararosaniline (réf. 1804-15ML)

Pararosanine, 40 g/l, C.I. 42500, dans de l'acide chlorhydrique à 2 mol/l. Danger. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Peut irriter les voies respiratoires. Peut provoquer le cancer. Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.

Comprimés de nitrite de sodium (réf. 1809-10TAB)

Nitrite de sodium, 250 à 260 mg par comprimé. Danger. Peut aggraver un incendie ; comburant. Toxique en cas d'ingestion. Provoque une sévère irritation des yeux. Très toxique pour les organismes aquatiques. Tenir/Conserver à l'écart des vêtements/matières combustibles. Éviter le rejet dans l'environnement. EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

Solution de citrate (réf. 915-50ML)

Acide citrique, 18 mmol/l, citrate de sodium, 9 mmol/l, chlorure de sodium, 12 mmol/l et agent tensioactif. Le pH doit être de $3,6 \pm 0,1$.

Tampon phosphate (réf. 1805-1VL)

Phosphate de sodium, 59,6 mM, phosphate de potassium, 7,1 mM.

Solution de bleu de méthylène (réf. 1808-50ML)

Bleu de méthylène, C.I. 52015, 1,4 % (p/v) dans de l'éthanol à 95 %.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Acétone, de qualité réactif ou de qualité ACS
- Formaldéhyde, 37 %
- Bain-marie capable de maintenir une température de 37 °C et protégé de la lumière

Conservation et stabilité

Conserver la solution d' α -naphthyl butyrate au congélateur à une température inférieure à 0 °C. Chauffer la solution à 37 °C et bien mélanger avant de l'utiliser. Jeter les réactifs s'ils deviennent jaunes ou si un précipité se forme.

Conserver la solution de pararosaniline, le tampon phosphate, les comprimés de nitrite de sodium et la solution de bleu de méthylène à température ambiante (entre 18 et 26 °C) à l'abri de la lumière.

Conserver la solution de nitrite de sodium en comprimés et la solution de tampon phosphate au réfrigérateur (2 à 8 °C).

Les étiquettes des réactifs portent une date limite d'utilisation.

La solution de citrate peut être utilisée en l'absence de croissance microbienne.

Détérioration

Jeter la solution d' α -naphthyl butyrate si le réactif vire au jaune vif ou si un précipité se forme.

Jeter la solution de pararosaniline si la solution ne devient pas orangée après l'ajout de la solution des comprimés de nitrite de sodium.

La solution de tampon phosphate doit être jetée si elle devient trouble.

Préparation

Chauffer la solution d' α -naphthyl butyrate à 37 °C. La solution de nitrite de sodium préparée à partir de comprimés, à 4 g/dl, est préparée en dissolvant 1 comprimé dans 6,25 ml d'eau déionisée. Conserver cette solution hermétiquement fermée entre 2 et 8 °C. L'équilibrer à température ambiante avant de l'utiliser. Les jeter s'ils deviennent troubles.

La solution de tampon phosphate est préparée en dissolvant le contenu du tampon phosphate dans 500 ml d'eau déionisée. Le tampon a une concentration de 0,067 mol/l, pH 7,7 à 25 °C. Conserver cette solution au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). La jeter si une croissance microbienne est observée.

Remarque

Il est possible de retarder le développement d'une croissance microbienne en filtrant la solution avec un filtre de 0,22 micron.

Le contre-colorant à base de bleu de méthylène est préparé en ajoutant 5 ml de solution de bleu de méthylène à 45 ml d'eau déionisée. Bien mélanger. Préparer une nouvelle solution tous les jours.

Fixateur à base de citrate-acétone-formaldéhyde : ajouter 65 ml d'acétone et 8 ml de formaldéhyde à 37 % à 25 ml de solution de citrate. Verser la solution dans un flacon en verre et boucher hermétiquement. Conserver cette solution au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). L'équilibrer entre 18 et 26 °C avant de l'utiliser. Elle est stable si elle est conservée hermétiquement fermée au réfrigérateur.

Précautions

Les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* inclus dans ce kit 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.

Les échantillons peuvent être prélevés dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'héparine. Après la fixation, les lames peuvent être conservées à température ambiante pendant au moins 2 semaines. Si les cellules mononucléées doivent être isolées en utilisant le milieu de séparation HISTOPAQUE®-1077, la séparation doit être effectuée dans les 4 heures suivant le prélèvement, bien qu'une récupération satisfaisante des cellules ait été observée après 24 heures.¹ Les frottis sanguins, en particulier ceux provenant de personnes présentant une leucopénie, ne sont pas recommandés pour ces procédures, car l'évaluation de ce type d'échantillons prend beaucoup de temps. Il faut utiliser des préparations obtenues par cyto centrifugation ou bien des préparations de couche leucocytaire. Les frottis médullaires et les empreintes tissulaires ne posent aucun problème en ce qui concerne l'examen au microscope.

Remarques

Des cellules provenant de donneurs sains doivent être incluses avec chaque test.

Les cellules isolées sur des gradients de saccharose-diatrizoate de sodium peuvent être conservées dans de l'azote liquide (LN₂) à des fins de contrôle. Pour ce faire, congeler 1×10^7 à 10^8 cellules à $1 \pm 0,3$ °C par minute dans un milieu contenant 50 % de sérum de veau fœtal, 40 % de RPMI-1640 (ou d'autres milieux de culture tissulaire appropriés) et 10 % de diméthylsulfoxyde (DMSO). Elles peuvent être conservées dans de l'azote liquide ou gazeux.

Les lames doivent être évaluées à un grossissement 1000x. Les filtres en verre de didyme peuvent améliorer la couleur, en particulier la coloration diffuse de l' α -NB.

Procédure

1. Préchauffer la solution de tampon phosphate à 37 °C.
2. Juste avant la fixation, ajouter 1,5 ml de solution de nitrite de sodium préparée à partir de comprimés à 1,5 ml de solution de pararosaniline. Mélanger délicatement par inversion et laisser reposer au moins 5 minutes, puis ajouter à 40 ml de solution de tampon phosphate préchauffée.
3. Ajouter 5 ml de solution d' α -naphthyl butyrate.
4. Bien mélanger et verser dans une cuve à coloration de Coplin. La solution sera de couleur orangée. La formation d'un précipité indique une détérioration du réactif.
5. Fixer les lames dans le fixateur à base de citrate-acétone-formaldéhyde à température ambiante (entre 18 et 26 °C) pendant 10 secondes. Rincer à l'eau déionisée pendant 45 secondes. Ne pas laisser les lames sécher.
6. Immédiatement après le rinçage, placer les lames dans la solution de l'étape 4 et laisser incuber pendant 1 heure à 37 °C. **Remarque** : si les lames ne sont pas placées dans la solution d'incubation après la fixation, il faut les laisser sécher à l'air libre pendant au moins 45 minutes.
7. Au bout d'une (1) heure, retirer les lames de la cuve à coloration de Coplin et les rincer sous l'eau du robinet pendant 2 à 3 minutes. Jeter la solution de coloration.
8. Laisser les lames sécher à l'air libre pendant au moins 15 minutes avant de procéder à la contre-coloration.
9. Contre-colorer dans le contre-colorant à base de bleu de méthylène pendant 5 minutes.
10. Rincer à l'eau déionisée.

Caractéristiques de performance

Le profil de coloration localisé (points) observé dans certains lymphocytes est associé aux lymphocytes T matures portant des récepteurs Fc pour les IgM. Ce sous-ensemble recouvre dans une certaine mesure la population de lymphocytes T auxiliaires, mais ne constitue pas une mesure précise de la fonction auxiliaire. Les lymphocytes dont la coloration est diffuse ou granulaire portent des récepteurs au fragment Fc des IgG et recouvrent dans une certaine mesure la population de lymphocytes T suppresseurs.

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
1801	Solution d'a-naphtyle butyrate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
1804	Solution de pararosaniline	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
1809	Comprimés de nitrite de sodium	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
915	Solution de citrate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
1805	Tampon phosphate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
1808	Solution de bleu de méthylène	Sites d'activité	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.



H226 Liquide et vapeurs inflammables.

H272 Peut aggraver un incendie ; comburant.

H290 Peut être corrosif pour les métaux.

H301 Toxique en cas d'ingestion.

H312 + H332 Nocif par contact cutané ou par inhalation.

H315 Provoque une irritation cutanée.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H335 Peut irriter les voies respiratoires.

H350 Peut provoquer le cancer.

H370 Risque avéré d'effets graves pour les organes (yeux).

H400 Très toxique pour les organismes aquatiques.

P210 Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P273 Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P301 + P310 EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

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 + P312 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

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 <i>in vitro</i>)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2023

Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Déplacement de la déclaration relative à l'aide au diagnostic vers l'utilisation prévue. 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. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Suppression des références au kit 181A. 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 GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Le M majuscule et Sigma-Aldrich sont des marques de commerce de Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne ou de ses filiales. Toutes les autres marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs. Des informations détaillées sur les marques de commerce sont disponibles via des ressources accessibles au public.

Istruzioni per l'uso

Kit linfocita α-naftil butirrato esterasi

Procedura n. 181



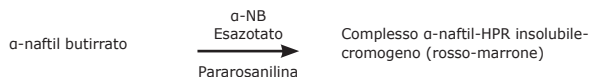
Uso previsto

Il kit linfocita α-naftil butirrato esterasi è destinato all'uso come colorazione istochimica generale di laboratorio per il rilevamento dell'α-naftil butirrato esterasi nel sangue, nelle pellicole di midollo osseo e nelle preparazioni di contatto con i tessuti. Il Kit linfocita α-naftil butirrato esterasi è previsto per la "Diagnostica in vitro". Solo per uso professionale. I dati ottenuti da questa procedura qualitativa manuale servono solo come ausilio per la diagnosi su campioni umani e devono essere valutati in combinazione con altre indagini o informazioni diagnostiche cliniche.

La reazione elencata di seguito per l'α-naftil butirrato esterasi dimostrerà anche un'attività esterasica aspecifica nei monociti e nei macrofagi. A tale scopo sono disponibili vari metodi. Il metodo citato più avanti è aspecifico per monociti e macrofagi poiché il pH del terreno di coltura è stato corretto per rilevare un pattern di colorazione focale (a punti) in alcuni linfociti. La procedura che utilizza l'α-naftil butirrato esterasi è meno sensibile di quella basata sull'α-naftil acetato esterasi. Per le procedure più sensibili ai monociti Sigma ha in catalogo due kit per le esterasi, N. di cat. 90A1 e 91A. I kit includono anche le istruzioni per rilevare la presenza di α-naftil acetato esterasi con inibizione con fluoruro.

Secondo le tecniche di Sigma-Aldrich, le preparazioni con citocentrifuga e gli strisci vengono fissati in una soluzione di citrato-acetone-formaldeide. L'α-naftil acetato esterasi viene quindi visualizzato mediante i seguenti principi di cattura simultanea.

α-naftil butirrato esterasi



Reagenti

Soluzione di α-naftil butirrato (N. di cat. 1801-50ML)

α-naftil butirrato, 2,4 g/l, in soluzione metanolica con solubilizzanti.

Soluzione di pararosanilina (N. di cat. 1804-15ML)

Pararosanilina, 40 g/l, CI 42500, in acido cloridrico 2 mol/l. Pericolo. Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare. Può irritare le vie respiratorie. Può provocare il cancro. Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

Comprese di nitrito di sodio (N. di cat. 1809-10TAB)

Nitrito di sodio, 250-260 mg per compressa. Pericolo. Può intensificare il fuoco; comburente. Tossico se ingerito. Provoca grave irritazione oculare. Molto tossico per gli organismi acquatici. Tenere/conservare lontano da indumenti/materiali combustibili. Non disperdere nell'ambiente. IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

Soluzione di citrato (N. di cat. 915-50ML)

Acido citrico, 18 mmol/l, citrato di sodio, 9 mmol/l, cloruro di sodio, 12 mmol/l e tensioattivo. Il pH deve essere 3,6±0,1.

Tampone di fosfato (N. di cat. 1805-1VL)

Fosfato di sodio, 59,6 mM, fosfato di potassio, 7,1 mM.

Soluzione di blu di metilene (N. di cat. 1808-50ML)

Blu di metilene, CI 52015, 1,4% (p/v) in etanolo al 95%

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Acetone, reagente grado ACS
- Formaldeide, 37%
- Bagnomaria in grado di mantenere 37 °C al riparo dalla luce

Conservazione e stabilità

Conservare la soluzione di α-naftil butirrato nel congelatore a temperatura inferiore a 0 °C. Scaldare la soluzione a 37 °C e mescolare bene prima dell'uso. Scartare se i reagenti provocano una colorazione gialla nel campione o se si forma un precipitato.

Conservare la soluzione di pararosanilina, il tampone di fosfato, le compresse di nitrito di sodio e la soluzione di blu di metilene a temperatura ambiente (18-26 °C), al riparo dalla luce.

Conservare la soluzione in compresse di nitrito di sodio e la soluzione tampone fosfato in frigorifero (2-8°C).

Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza.

La soluzione di citrato è idonea per l'uso in assenza di crescita microbica.

Deterioramento

Scartare la soluzione di α-naftil butirrato se il reagente produce una colorazione gialla o se si forma un precipitato.

Scartare la soluzione di pararosanilina se l'aggiunta della soluzione di nitrito di sodio in compresse non produce una colorazione ambra nel campione.

Scartare la soluzione tampone di fosfato se appare torbida.

Preparazione

Scaldare la soluzione di α-naftil butirrato a 37 °C. Per preparare la soluzione di compresse di nitrito di sodio, 4 g/dl, sciogliere 1 compressa in 6,25 ml di acqua deionizzata. Conservare questa soluzione in un recipiente chiuso ermeticamente a 2-8 °C. Scaldare a temperatura ambiente prima dell'uso. Scartare in presenza di torbidità.

Per preparare la soluzione tampone di fosfato, sciogliere il contenuto del tampone fosfato in 500 ml di acqua deionizzata. Il tampone ha una concentrazione di 0,067 mol/l, pH 7,7 a 25 °C. Conservare in frigorifero (2-8 °C). Scartare se la crescita microbica è evidente.

Nota

La crescita microbica può essere ritardata mediante filtrazione attraverso un filtro da 0,22 micron.

Per preparare il Methylene Blue Counterstain, aggiungere 5 ml di soluzione di blu di metilene a 45 ml di acqua deionizzata. Mescolare bene. Preparare una nuova soluzione ogni giorno.

Fissativo a base di citrato-acetone-formaldeide: aggiungere 65 ml di acetone e 8 ml di formaldeide al 37% a 25 ml di soluzione di citrato. Versare in un flaconcino di vetro e avvitare bene il tappo. Conservare in frigorifero (2-8 °C). Scaldare a 18-26 °C prima dell'uso. Stabile se conservato ben chiuso in frigorifero.

Precauzioni

Gli IVD inclusi in questo kit 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.

I campioni possono essere conservati con EDTA o eparina. Una volta fissati, i vetrini possono essere conservati a temperatura ambiente per almeno 2 settimane. Se si devono isolare cellule mononucleate utilizzando HISTOPAQUE®-1077, eseguire la separazione entro 4 ore, anche se dopo 24 ore è stato osservato un discreto recupero.¹ Non è consigliabile utilizzare per queste procedure strisci ematici, in particolare quelli provenienti da individui leucopenici, poiché l'esame di questo materiale è piuttosto dispendioso in termini di tempo. Meglio utilizzare preparazioni con citocentrifuga o buffy coat. Gli strisci midollari e i preparati ottenuti per apposizione di tessuti non creano problemi per quanto riguarda la valutazione microscopica.

Note

Ciascun test deve includere cellule di donatori sani.

Le cellule isolate su gradienti di polisaccarosio-diatrizioato di sodio possono essere conservate in azoto liquido (LN₂) a fini di controllo. Per farlo, congelare 1 x 10⁷ - 10⁸ cellule a 1±0,3 °C al minuto in un terreno di coltura contenente 50% di siero fetale bovino, 40% di RPMI-1640 (o altri fluidi per coltura tissutale appropriati) e 10% di dimetilsolfossido (DMSO). Le cellule possono essere conservate nella fase liquida o vapore di LN₂.

Esaminare i vetrini con ingrandimento 1000X. I filtri al didimio possono migliorare il colore, in particolare della colorazione diffusa α-NB.

Procedura

1. Preriscaldare la soluzione di tampone di fosfato a 37 °C.
2. Subito prima della fissazione, aggiungere 1,5 ml di soluzione di compresse di nitrito di sodio a 1,5 ml di soluzione di pararosanilina. Mescolare delicatamente per inversione e lasciare riposare per almeno 5 minuti, quindi aggiungere a 40 ml di soluzione di tampone di fosfato preriscaldato.
3. Aggiungere 5 ml di soluzione di α-naftil butirrato.
4. Mescolare bene e versare in una vaschetta tipo Coplin. Si ottiene così una soluzione di colore ambra. La formazione di precipitato indica il deterioramento del reagente.
5. Fissare i vetrini nel fissativo a base di citrato-acetone-formaldeide per 10 secondi, a temperatura ambiente (18-26 °C). Sciacquare con acqua deionizzata per 45 secondi. Non far asciugare i vetrini.
6. Subito dopo averli risciacquati, immergere i vetrini nella soluzione preparata come indicato al punto 4 e incubare a 37 °C per 1 ora. **Nota:** se dopo la fissazione i vetrini non vengono immersi nella soluzione di incubazione, lasciarli asciugare all'aria per almeno 45 minuti.
7. Dopo 1 ora rimuovere i vetrini dalla vaschetta tipo Coplin e sciacquarli per 2-3 minuti con acqua corrente. Scartare la soluzione colorante.
8. Lasciare asciugare all'aria i vetrini per almeno 15 minuti prima della controcolorazione.
9. Controcolorare per 5 minuti con controcolorante blu di metilene.
10. Sciacquare con acqua deionizzata.

Caratteristiche prestazionali

Il pattern di colorazione focale (a punti) osservato in alcuni linfociti è associato a linfociti T maturi con presenza di recettori Fc per IgM. Questa sottopopolazione si sovrappone in una certa misura alla popolazione di cellule T helper, ma non è una misura accurata della funzione helper. La colorazione diffusa o granulare dei linfociti esprime i recettori per la porzione Fc di IgG e si sovrappone in qualche misura alla popolazione di cellule T suppressor.

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
1801	Soluzione di α-naftil butirato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
1804	Soluzione di pararosanilina	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
1809	Compresse di nitrito di sodio	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
915	Soluzione di citrato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
1805	Tampone di fosfato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
1808	Soluzione di blu di metilene	Sedi di attività	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.



- H226 Liquido e vapore infiammabili.
- H272 Può aggravare un incendio; comburente.
- H290 Può essere corrosivo per i metalli.
- H301 Tossico se ingerito.
- H312 + H332 Nocivo per contatto con la pelle o se inalato.
- H315 Provoca irritazione cutanea.
- H319 Provoca grave irritazione oculare.
- H335 Può irritare le vie respiratorie.
- H350 Può provocare il cancro.
- H370 Provoca danni agli organi (occhi).
- H400 Molto tossico per gli organismi acquatici.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme o altre fonti di innesco. Non fumare.

P273 Non disperdere nell'ambiente.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.

P301 + P310 IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.

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 + P312 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In presenza di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986.

Recapiti

Per effettuare un ordine, visitare il nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com. Per il servizio di assistenza tecnica, visitare l'apposita pagina dedicata sul nostro sito web all'indirizzo SigmaAldrich.com/techservice.

Cronologia delle revisioni

Rev. 3.0	2014	
Rev. 4.0	2016	
Rev. 5.0	2023	Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Spostata l'espressione "ausilio per la diagnosi" nella sezione "Uso previsto". 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. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Rimossi i riferimenti kit 181A. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Instrucciones de uso

Kit de α-naftil butirato esterasa de linfocitos

Procedimiento n.º 181



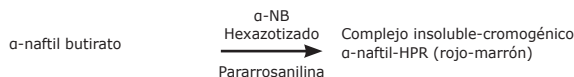
Uso previsto

El kit de α-naftil butirato esterasa de linfocitos está pensado para su uso como tinción histoquímica general de laboratorio para la detección de α-naftil butirato esterasa en sangre, células de médula ósea y en improntas de tejidos. El kit de α-naftil butirato esterasa de linfocitos es para "uso diagnóstico in vitro". Solo para uso profesional. Los datos obtenidos mediante este procedimiento manual y cualitativo solo sirven como ayuda en el diagnóstico de muestras humanas y deben revisarse junto con otras pruebas o información de diagnóstico clínico.

La reacción indicada a continuación para la α-naftil butirato esterasa también demostrará la actividad inespecífica de la esterasa en monocitos y macrófagos. Para ello, existen varios métodos diferentes. El método que se indica a continuación no es específico para monocitos y macrófagos, ya que el pH del medio de incubación se ha ajustado para mostrar un patrón de tinción focal (de puntos) en algunos linfocitos. El procedimiento de la α-naftil butirato esterasa es menos sensible que el de la α-naftil acetato esterasa. Para los procedimientos más sensibles a los monocitos, Sigma ofrece dos kits de esterasa, números de catálogo 90A1 y 91A. Estos kits también incluyen instrucciones para la demostración de la α-naftil acetato esterasa con inhibición por flúor.

Según las técnicas de Sigma-Aldrich, las preparaciones o láminas de citocentrífuga se fijan en una solución de citrato-acetona-formaldehído. La α-naftil butirato esterasa se visualiza entonces mediante los siguientes principios de captura simultánea.

α-naftil butirato esterasa



Reactivos

Solución de α-naftil butirato (N.º de cat. 1801-50ML)

α-naftil butirato, 2,4 g/l, en solución de metanol con solubilizantes

Solución de pararosanilina (N.º de cat. 1804-15ML)

Pararosanilina, 40 g/l, C.I. 42500, en ácido clorhídrico 2 mol/l. Peligro. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Puede irritar las vías respiratorias. Puede provocar cáncer. Evitar respirar polvos/humos/gases/nieblas/vapores/aerosoles.

Comprimidos de nitrato de sodio (N.º de cat. 1809-10TAB)

Nitrato de sodio, 250-260 mg por comprimido. Peligro. Puede agravar un incendio; comburente. Tóxico en caso de ingestión. Provoca irritación ocular grave. Muy tóxico para los organismos acuáticos. Mantener o almacenar alejado de la ropa y otros materiales combustibles. No dispersar en el medio ambiente. EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico.

Solución de citrato (N.º de cat. 915-50ML)

Ácido cítrico, 18 mmol/l, citrato de sodio, 9 mmol/l, cloruro de sodio, 12 mmol/l, y tensioactivo. El pH debe ser de 3,6 ± 0,1.

Solución amortiguadora con fosfato (N.º de cat. 1805-1VL)

Fosfato de sodio, 59,6 mM, fosfato de potasio, 7,1 mM.

Solución de azul de metileno (N.º de cat. 1808-50ML)

Azul de metileno, C.I. 52015, al 1,4 % (p/v) en etanol al 95 %.

Material especial necesario pero no suministrado

- Acetona, reactivo ACS
- Formaldehído al 37 %
- Baño de agua que puede mantener 37 °C protegido de la luz

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar la solución de α-naftil butirato en el congelador por debajo de 0 °C. Calentar la solución a 37 °C y mezclarla bien antes de usarla. Descartar si los reactivos se vuelven amarillos o si se forma un precipitado.

Almacenar la solución de pararosanilina, la solución amortiguadora de fosfato, los comprimidos de nitrato de sodio y la solución de azul de metileno a temperatura ambiente (18-26 °C) protegidos de la luz.

Almacene la solución de comprimidos de nitrato de sodio y la solución amortiguadora de fosfato en el frigorífico (2-8 °C).

Las etiquetas de los reactivos indican la fecha de caducidad.

La solución de citrato es adecuada para su uso en ausencia de crecimiento microbiano.

Deterioro

Desechar la solución de α-naftil butirato si el reactivo se vuelven de color amarillo brillante o si se forma un precipitado.

Desechar la solución de pararosanilina si la solución no se vuelve ámbar al añadir la solución de comprimidos de nitrato de sodio.

La solución amortiguadora de fosfato debe desecharse si se produce turbidez.

Preparación

Caliente la solución de α-naftil butirato a 37 °C. La solución de comprimidos de nitrato de sodio, 4 g/dl, se prepara disolviendo 1 comprimido en 6,25 ml de agua desionizada. Conservar esta solución bien tapada a 2-8 °C. Calentar hasta la temperatura ambiente antes de su uso. Desechar si presenta turbidez.

La solución amortiguadora de fosfato se prepara disolviendo el contenido del amortiguador de fosfato en 500 ml de agua desionizada. El amortiguador tiene una concentración de 0,067 mol/l, pH 7,7 a 25 °C. Conservar en el frigorífico (2-8 °C). Descartar si el crecimiento microbiano es evidente.

Nota

El crecimiento microbiano se puede retardar mediante filtración a través de una unidad de filtro de 0,22 micras.

La contratinción con azul de metileno se prepara añadiendo 5 ml de solución de azul de metileno a 45 ml de agua desionizada. Mezclar bien. Preparar solución nueva diariamente.

Fijador de citrato-acetona-formaldehído: A 25 ml de solución de citrato, añadir 65 ml de acetona y 8 ml de formaldehído al 37 %. Colocar en un frasco de vidrio y tapar bien. Conservar en el frigorífico (2-8 °C). Calentar a 18-26 °C antes de usar. Estable si se almacena bien tapado en el frigorífico.

Precauciones

Los dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (DMDIV) incluidos en este kit 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.

Las muestras pueden recogerse en EDTA o en heparina. Tras la fijación, los portaobjetos pueden conservarse a temperatura ambiente durante al menos 2 semanas. Si se van a aislar células mononucleares utilizando HISTOPAQUE®-1077, la separación debe realizarse dentro de las 4 horas siguientes, aunque se ha observado una buena recuperación después de 24 horas.¹ Las láminas de sangre, particularmente de personas leucopénicas, no se recomiendan para estos procedimientos, ya que la evaluación de este material lleva bastante tiempo. Se debe emplear la citocentrífuga o preparaciones de capa leucoplaquetaria. Las láminas de médula ósea y las improntas citológicas de tejidos no plantean problemas en lo que respecta a la evaluación microscópica.

Notas

En cada prueba, deben incluirse células de donantes sanos.

Las células aisladas en gradientes de polisucrosa y diatrizoato de sodio pueden almacenarse en nitrógeno líquido (LN₂) para su control. Para ello, se congelan 1 x 10⁷ - 10⁸ células a 1 ± 0,3 °C por minuto en un medio que contiene 50 % de suero de ternera fetal, 40 % de RPMI-1640 (u otros líquidos de cultivo de tejido apropiados) y 10 % de dimetilsulfóxido (DMSO). Pueden almacenarse en la fase líquida o de vapor de LN₂.

Los portaobjetos deben evaluarse con un aumento de 1000X. Los filtros de didimio pueden realzar el color particularmente de la tinción difusa α-NB.

Procedimiento

1. Precalentar la solución amortiguadora de fosfato hasta los 37 °C.
2. Inmediatamente antes de la fijación, añadir 1,5 ml de solución de comprimidos de nitrato de sodio a 1,5 ml de solución de pararosanilina. Mezclar suavemente por inversión y dejar reposar al menos 5 minutos, y luego añadir a 40 ml de solución amortiguadora de fosfato precalentada.
3. Añadir 5 ml de solución de α-naftil butirato.
4. Mezclar bien y verter en el frasco Coplin. La solución será de color ámbar. La formación de un precipitado indica el deterioro del reactivo.
5. Fijar los portaobjetos durante 10 segundos en fijador de citrato-acetona-formaldehído a temperatura ambiente (18-26 °C). Aclarar en agua desionizada durante 45 segundos. No dejar que los portaobjetos se sequen.
6. Inmediatamente después del enjuague, colocar los portaobjetos en la solución del paso 4 e incubar 1 hora a 37 °C. **Nota:** Si los portaobjetos no se colocan en la solución de incubación después de la fijación, deben dejarse secar al aire durante al menos 45 minutos.
7. Después de 1 hora, retirar los portaobjetos del frasco Coplin y enjuagar durante 2 o 3 minutos en agua corriente del grifo. Desechar la solución de tinción.
8. Dejar que los portaobjetos se sequen al aire por lo menos 15 minutos antes de la contratinción.
9. Realizar una contratinción de 5 minutos en azul de metileno.
10. Aclarar con agua desionizada.

Características de funcionamiento

El patrón de tinción focal (por puntos) observado en algunos linfocitos se asocia con linfocitos T maduros que tienen receptores Fc para IgM. Este subconjunto se superpone a la población de linfocitos T auxiliares en cierta medida, pero no es una medida precisa de la función auxiliar. Los linfocitos de tinción difusa o granular tienen receptores para la porción Fc de la IgG y se superponen en cierta medida a la población de linfocitos T supresores.

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
1801	Solución de o-naftil butirato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1804	Solución de pararrosanilina	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1809	Comprimidos de nitrito de sodio	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
915	Solución de citrato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1805	Solución amortiguadora de fosfato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1808	Solución de azul de metileno	Lugares de actividad	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.



- H226 Líquido y vapores inflamables.
- H272 Puede agravar un incendio; comburente.
- H290 Puede ser corrosiva para los metales.
- H301 Tóxico en caso de ingestión.
- H312 + H332 Nocivo en contacto con la piel o si se inhala.
- H315 Provoca irritación cutánea.
- H319 Provoca irritación ocular grave.
- H335 Puede irritar las vías respiratorias.
- H350 Puede provocar cáncer.
- H370 Provoca daños en los órganos (ojos).
- H400 Muy tóxico para los organismos acuáticos.
- P210 Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas, llamas al descubierto y otras fuentes de ignición. No fumar.
- P273 No dispersar en el medio ambiente.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P301 + P310 EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- 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 + P312 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si la persona no se encuentra bien.

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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:87, 1986

Información de contacto

Para hacer un pedido, visite nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para solicitar el Servicio técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historial de revisiones

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha movido la declaración de ayuda al diagnóstico al uso previsto. 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 han añadido advertencias y peligros. Se han suprimido las referencias al kit 181A. 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

Brugsanvisning

Lymfocyt-α-naphthylbutyraterase-sæt

Procedure nr. 181



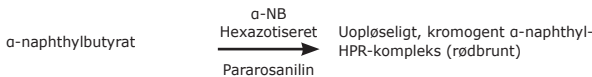
Tilsigtet brug

Lymfocyt-α-naphthylbutyraterase-sættet er beregnet til brug som en histokemisk farvning til almindelig laboratoriebrug med henblik på påvisning af α-naphthylbutyraterase i blod, knoglemarvsmembran og vævsberøringspræparater. Lymphocyte α-Naphthyl Butyrate Esterase Kit er beregnet til "in vitro-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Dataene, som opnås med denne manuelle kvalitative procedure, tjener udelukkende som en hjælp ved diagnosticering af humane prøver og skal gennemgås i sammenhæng med andre kliniske, diagnostiske tests eller oplysninger.

Reaktionen, som er anført nedenfor for α-naphthylbutyraterase, vil også påvise uspecifik esteraseaktivitet i monocytter og makrofager. Der findes flere forskellige metoder til dette formål. Metoden, der er anført nedenfor, er ikke specifik for monocytter og makrofager, eftersom inkubationsmediets pH-værdi er blevet justeret for at vise et fokalt (prikket) farvningsmønster i visse lymfocytter. α-naphthylbutyraterase-proceduren er mindre sensitiv end α-naphthylacetaterase-proceduren. Til procedurer, der er mere sensitive over for monocytter, tilbyder Sigma to esterase-sæt, katalognr. 90A1 og 91A. Disse sæt inkluderer desuden anvisninger til påvisning af α-naphthylacetaterase med fluoridinhibering.

Cytoentrifugepræparater eller -film fikseres i en citrat-acetone-formaldehydopløsning i henhold til teknikker fra Sigma-Aldrich. α-naphthylbutyraterase visualiseres derefter ved brug af følgende samtidige indfangningsprincipper.

α-naphthylbutyraterase



Reagenser

α-naphthylbutyrat-opløsning (kat.nr. 1801-50ML)
α-naphthylbutyrat, 2,4 g/l, i metanolopløsning med opløsende stoffer.

Pararosanilinopløsning (kat.nr. 1804-15ML)
Pararosanilin, 40 g/l, CI 42500, i 2 mol/l saltsyre. Fare. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Kan forårsage irritation af luftvejene. Kan fremkalde kræft. Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.

Natriumnitrit-tabletter (kat.nr. 1809-10TAB)
Natriumnitrit, 250-260 mg pr. tablet. Fare. Kan forstærke brand, brandnærende. Giftig ved indtagelse. Forårsager alvorlig øjenirritation. Meget giftig for vandlevende organismer. Holdes/opbevares væk fra beklædningsgenstande/brændbare materialer. Undgå udledning til miljøet. VED INDTAGELSE: Ring omgående til en GIFTINFORMATION eller en læge.

Citratopløsning (kat.nr. 915-50ML)
Citronsyre, 18 mmol/l, natriumcitrat, 9 mmol/l, natriumchlorid, 12 mmol/l, og overfladeaktivt stof. pH skal være 3,6 ±0,1.

Fosfatbuffer (kat.nr. 1805-1VL)
Natriumfosfat, 59,6 mM, kaliumfosfat, 7,1 mM.

Methylenblåt-opløsning (kat.nr. 1808-50ML)
Methylenblåt, CI 52015, 1,4 % (vægt/vol.) i 95 % ethanol.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Acetone, ACS-reagens
- Formaldehyd, 37 %
- Vandbad, som kan holde 37 °C, afskærmet mod lys

Opbevaring og stabilitet

α-naphthylbutyratopløsning skal opbevares i en fryser ved under 0 °C. Opvarm opløsningen til 37 °C, og bland godt inden brug. Skal kasseres, hvis reagenserne bliver gule, eller hvis der dannes bundfald.

Pararosanilinopløsning, fosfatbuffer, natriumnitrit-tabletter og methylenblåt-opløsning skal opbevares ved stuetemperatur (18-26 °C) beskyttet mod lys.

Natriumnitrit-tabletopløsning og fosfatbufferopløsning skal opbevares på køl (2-8 °C).

Reagensmærkaterne er forsynet med udløbsdato.

Citratopløsning er egnet til brug ved fravær af mikrobiel vækst.

Forringelse

α-naphthylbutyratopløsning skal kasseres, hvis reagenserne bliver gule, eller hvis der dannes bundfald.

Pararosanilinopløsning skal kasseres, hvis opløsningen ikke bliver ravgul ved tilsætning af natriumnitrit-tabletopløsning.

Fosfatbufferopløsning skal kasseres, hvis der udvikles uklarhed.

Forberedelse

Opvarm α-naphthylbutyratopløsning til 37 °C. Natriumnitrit-tabletopløsning, 4 g/dl, fremstilles ved at opløse 1 tablet i 6,25 ml demineraliseret vand. Opbevar denne opløsning tæt lukket ved 2-8 °C. Opvarm til stuetemperatur inden brug. Skal bortskaffes, hvis der opstår uklarheder.

Fosfatbufferopløsning fremstilles ved at opløse indholdet af fosfatbuffer i 500 ml demineraliseret vand. Buffer har en koncentration på 0,067 mol/l, pH 7,7, ved 25 °C. Opbevares i køleskab (2-8 °C). Skal bortskaffes, hvis der er tydelig mikrobiel vækst.

Bemærk

Mikrobiel vækst kan forsinkes ved filtrering gennem en 0,22 mikron-filterenhed.

Methylenblåt kontrastfarve fremstilles ved at tilsætte 5 ml methylenblåt-opløsning til 45 ml demineraliseret vand. Bland grundigt. Forbered en frisk opløsning dagligt.

Citrat-acetone-formaldehydfiksativ: Til 25 ml citratopløsning tilsættes 65 ml acetone og 8 ml 37 % formaldehyd. Anbring i en glasflaske, og stram låget godt til. Opbevares i køleskab (2-8 °C). Opvarm til 18-26 °C før brug. Stabil ved tæt lukket opbevaring i køleskab.

Forsigtighedsregler

IVD'erne, der er inkluderet i dette sæt, 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.

Prøver kan indsamles i enten EDTA eller heparin. Efter fiksering kan objektglassene opbevares ved stuetemperatur i mindst 2 uger. Hvis mononukleære celler skal isoleres ved brug af HISTOPAQUE®-1077, skal separation udføres inden for 4 timer, selvom rimelig indhentning er blevet bemærket efter 24 timer.¹ Blodfilm, især fra personer med leukopeni, frarådes til brug til disse procedurer, da evaluering af dette materiale er ret tidskrævende. Der skal anvendes cytoentrifuge- eller buffy coat-præparater. Knoglemarvsmembran og vævsberøringspræparater udgør ingen problemer med hensyn til mikroskopisk evaluering.

Bemærkninger

Celler fra raske donorer skal inkluderes i hver test.

Celler, som er isoleret på polysaccharose-natriumdiazotizat-gradienten, kan opbevares i flydende nitrogen (LN₂) til kontrolformål. For at opnå dette fryses 1 x 10⁶ - 10⁸ celler ved 1 ±0,3 °C pr. minut i et medium, som indeholder 50 % føtalt kalveserum, 40 % RPMI-1640 (eller andre passende vævskulturvæsker) og 10 % dimethylsulfoxid (DMSO). De kan opbevares i enten væske- eller dampfasen af LN₂.

Objektglassene skal evalueres ved brug af en 1000X forstørrelse. Dydimium-filtre kan forbedre farven, især den diffuse α-NB-farvning.

Procedure

- Forvarm fosfatbufferopløsningen til 37 °C.
- Umiddelbart inden fiksering tilsættes 1,5 ml natriumnitrit-tabletopløsning til 1,5 ml pararosanilinopløsning. Bland opløsningen forsigtigt ved at vende op og ned, lad den stå i mindst 5 minutter, og tilsæt derefter til 40 ml forvarmet fosfatbufferopløsning.
- Tilsæt 5 ml α-naphthylbutyratopløsning.
- Bland opløsningen godt, og hæld den i en Coplin-skål. Opløsningen vil være ravgul. Dannelse af bundfald er tegn på reagensforringelse.
- Fikser objektglassene i 10 sekunder i citrat-acetone-formaldehydfiksativ ved stuetemperatur (18-26 °C). Skyl i demineraliseret vand i 45 sekunder. Lad ikke objektglassene tørre.
- Placer objektglassene i opløsningen fra trin 4 umiddelbart efter skylning, og inkuber i 1 time ved 37 °C. **Bemærk:** Hvis objektglassene ikke placeres i inkubationsopløsning efter fiksering, skal de have tid til at lufttørre i mindst 45 minutter.
- Efter 1 time fjernes objektglassene fra Coplin-skålen og skylles i 2-3 minutter i rindende postevand. Bortskaf farvningsopløsningen.
- Lad objektglassene lufttørre mindst 15 minutter, inden de kontrastfarves.
- Kontrastfarv i 5 minutter i methylenblåt kontrastfarve.
- Skyl i demineraliseret vand.

Præstationskarakteristika

Det fokale (prikkede) farvningsmønster, som observeres i visse lymfocytter, er forbundet med modne T-celler, der bærer Fc-receptorer for IgM. Denne undergruppe overlapper til en vis grad T-hjælpercellepopulationen, men er ikke et nøjagtigt mål for hjælperfunktion. De diffust eller granulært farvede lymfocytter bærer receptorer til Fc-delen af IgG og overlapper til en vis grad T-suppressorcellepopulationen.

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 repeterbarhed.

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
1801	α-naphthylbutyrat-opløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
1804	Pararosanilin-opløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
1809	Natriumnitrit-tabletter	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
915	Citratopløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
1805	Fosfatbuffer	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
1808	Methylenblåt-opløsning	Aktivitetssteder	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.



- H226 Brandfarlig væske og damp.
- H272 Kan forstærke brand, brandnærende.
- H290 Kan ætse metaller.
- H301 Giftig ved indtagelse.
- H312 + H332 Farlig ved hudkontakt eller ved indånding.
- H315 Forårsager hudirritation.
- H319 Forårsager alvorlig øjenirritation.
- H335 Kan forårsage irritation af luftvejene.
- H350 Kan fremkalde kræft.
- H370 Forårsager organskader (øjne).
- H400 Meget giftig for vandlevende organismer.
- P210 Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P273 Undgå udledning til miljøet.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P301 + P310 I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.
- P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.
- P304 + P340 + P312 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Kontakt GIFTLINJEN/en læge i tilfælde af ubehag.

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. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Flyttet udtalelse om hjælp ved diagnosticering til tilsigtet brug. 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. Tilføjet advarsler og farer. Fjernet henvisninger til 181A-sæt. 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 CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Bruksanvisning

Lymfocyt α-naftylbutyratesteras-sats

Förfarande nr. 181



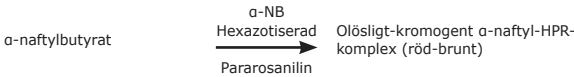
Avsedd användning

Lymfocyt α-naftylbutyratesteras-sats är avsedd att användas som en allmän histokemisk färgning i laboratorier för detektering av α-naftylbutyratesteras i blod, benmärgsfilmer och preparat för beröring av vävnader. Lymfocyt α-naftylbutyratesteras-satsen är för "in vitro-diagnostisk användning". Endast för yrkesmässigt bruk. Data som erhållits genom detta manuella, kvalitativa förfarande tjänar endast som ett hjälpmedel för diagnos av mänskliga prover och bör granskas i kombination med andra kliniska diagnostiska tester eller annan information.

Reaktionen listad nedan för α-naftylbutyratesteras kommer också att visa ospecifik esterasaktivitet i monocyter och makrofager. Flera olika metoder finns tillgängliga för detta ändamål. Metoden som listas nedan är inte specifik för monocyter och makrofager eftersom pH i inkubationsmediet har justerats för att visa ett fokalt (prick-)färgningsmönster i vissa lymfocyter. α-naftylbutyratesteraset är mindre känsligt än förfarandet för α-naftylacetatesteraset. För förfaranden som är mer känsliga för monocyter erbjuder Sigma två esterassats, katalognummer 90A1 och 91A. Dessa satsar innehåller också instruktioner för demonstration av α-naftylacetatesteras med fluoridinhibering.

Enligt Sigma-Aldrich-tekniker fixeras cytocentrifugpreparat eller filmer i en citrat-aceton-formaldehydlösning. α-naftylbutyratesteras visualiseras sedan genom följande principer för simultan infärgning.

α-naftylbutyratesteras



Reagenser

α-naftylbutyratlösning (kat.-nr. 1801-50ML)
α-naftylbutyrat, 2,4 g/l, i metanollösning med solubiliseringsmedel

Pararosanilinjösning (kat.-nr. 1804-15ML)
Pararosanilin, 40 g/l, CI 42500, i 2 mol/l saltsyra. Fara. Orsakar hudirritation. Orsakar allvarlig ögonirritation. Kan orsaka irritation i luftvägarna. Kan orsaka cancer. Andas inte in damm/rök/gas/dimma/ångor/spray.

Natriumnitrittabletter (kat.-nr. 1809-10TAB)
Natriumnitrit, 250–260 mg per tablett. Fara. Kan intensifiera eld; oxidationsmedel. Giftigt vid förtäring. Orsakar allvarlig ögonirritation. Mycket giftigt för vattenlevande organismer. Håll borta från kläder/brännbara material. Undvik utsläpp i miljön. VID FÖRTÄRING: Ring omedelbart till GIFTINFORMATIONSCENTRALEN eller läkare.

Citratlösning (kat.-nr. 915-50ML)
Citronsyra, 18 mmol/l, natriumcitrat, 9 mmol/l, natriumklorid, 12 mmol/l och ytaktivt ämne pH bör vara 3,6 ± 0,1.

Fosfatbuffert (kat.-nr. 1805-1VL)
Natriumfosfat, 59,6 mM, kaliumfosfat, 7,1 mM.

Metylenblått-lösning (kat.-nr 1808-50ML)
Metylenblått, CI 52015, 1,4 % (vikt/volym) i 95 % etanol

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyd 37 %
- Vattenbad som kan hålla 37 °C avskärmat från ljus

Förvaring och hållbarhet

Förvara α-naftylbutyratlösningar i frysen under 0 °C. Värm lösningar till 37 °C och blanda väl före användning. Kassera om reagenserna gulnar eller om fällningar bildas.

Förvara pararosanilinjösning, fosfatbuffert, natriumnitrittabletter och metylenblåttlösning i rumstemperatur (18–26 °C) skyddat från ljus.

Förvara natriumnitrittablettlösningar och fosfatbuffertlösningar i kylskåp (2–8 °C).

Utgångsdatum finns på reagensmärkningen.

Citratlösning är lämplig för användning i frånvaro av mikrobiell tillväxt.

Försämring

Kassera α-naftylbutyratlösningar om reagensen blir klargul eller om utfällningar bildas.

Kassera pararosanilinjösningar om de inte blir gulaktiga vid tillsats av en natriumnitrittablettlösning.

Fosfatbuffertlösningar ska kasseras om grumlighet uppstår.

Beredning

Värm α-naftylbutyratlösningar till 37 °C. Natriumnitrit-tablettlösning, 4 g/dl framställs genom att lösa upp 1 tablett i 6,25 ml avjoniserat vatten. Förvara denna lösning tätt tillsluten vid 2–8 °C. Förvärm till rumstemperatur före användningstillfället. Kasseras om grumlighet uppstår.

Fosfatbuffertlösning framställs genom att lösa innehållet av fosfatbuffert i 500 ml avjoniserat vatten. Bufferten har en koncentration på 0,067 mol/l, pH 7,7 vid 25 °C. Förvaras i kylskåp (2–8 °C). Kassera om mikrobiell tillväxt finns.

Obs!

Mikrobiell tillväxt kan bromsas genom filtrering genom en filterenhet på 0,22 mikron.

Metylenblått-motfärgning framställs genom att tillsätta 5 ml metylenblåttlösning till 45 ml avjoniserat vatten. Blanda väl. Bered en ny lösning varje dag.

Citratacetonaldehydfixeringsmedel: Tillsätt 65 ml aceton och 8 ml formaldehyd (37 %) till 25 ml citratlösning. Håll i glasflaska och tillslut tätt. Förvaras i kylskåp (2–8 °C). Värm till 18–26 °C före användning. Stabil om den förvaras med tätt lock i kylskåp.

Försiktighetsåtgärder

De medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik som ingår i denna sats 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 färgseende 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.

Prover kan tas i antingen EDTA eller heparin. Efter fixering kan objektglasen förvaras i rumstemperatur i minst 2 veckor. Om mononukleära celler ska isoleras med HISTOPAQUE®-1077 bör separation utföras inom 4 timmar, även om rimlig insamling har noterats efter 24 timmar.¹ Blodfilmer, särskilt från leukopena individer, rekommenderas inte för dessa förfaranden eftersom utvärdering av detta material är tidskrävande. Cytocentrifug- eller buffy coat-preparat bör användas. Benmärgsfilmer och beröringspreparat för vävnader utgör inga problem med avseende på mikroskopisk utvärdering.

Anmärkningar

Celler från friska donatorer bör inkluderas i varje test.

Celler isolerade på polysackaros-natriumdiazotizatgradienten kan förvaras i flytande kväve (LN₂) för kontrolländamål. För att åstadkomma detta fryses 1 x 10⁷ – 10⁸ celler vid 1 ± 0,3 °C per minut i ett medium som innehåller 50 % fetalt kalvserum, 40 % RPMI-1640 (eller andra lämpliga vävnadsodlingsvätskor) och 10 % dimetylsulfoxid (DMSO). De kan förvaras i antingen vätske- eller ångfas av LN₂.

Objektglas bör utvärderas med 1 000x-förstoring. Dydimiumfilter kan förstärka färgen, särskilt för den diffusa färgningen α-NB.

Förfarande

1. Förvärm fosfatbuffertlösning till 37 °C.
2. Omedelbart före fixering ska du tillsätta 1,5 ml natriumnitrittablettlösning till 1,5 ml pararosanilinjösning. Blanda försiktigt genom att vända och låt stå i minst 5 minuter, tillsatt sedan till 40 ml förvärmd fosfatbuffertlösning.
3. Tillsätt 5 ml α-naftylbutyratlösning.
4. Blanda väl och håll i Coplin-burk. Lösningen blir gulaktig. Bildning av utfällning indikerar reagensförsämring.
5. Fixera objektglas i citratacetonaldehydfixeringsmedel i 10 sekunder i rumstemperatur (18–26 °C). Skölj i avjoniserat vatten i 45 sekunder. Låt inte objektglaset torka.
6. Omedelbart efter sköljning ska du placera objektglaset i lösningen från steg 4 och inkubera i 1 timme vid 37 °C. **Obs!** Om objektglaset inte placeras i inkubationslösning efter fixering måste de tillåtas lufttorka i minst 45 minuter.
7. Ta bort objektglaset från Coplin-burken efter 1 timme och skölj i minst 2–3 minuter i rinnande kranvatten. Kassera färgningslösningen.
8. Låt objektglaset lufttorka minst 15 minuter före motfärgning.
9. Motfärga i 5 minuter i metylenblått-motfärgning.
10. Skölj i avjoniserat vatten.

Prestandaegenskaper

Det fokala (prick-)färgningsmönstret som observeras i vissa lymfocyter är associerat med mogna T-celler som bär Fc-receptorer för IgM. Denna undergrupp överlappar T-hjälparcellpopulationen i viss utsträckning men är inte ett korrekt mått på hjälparfunktionen. De diffusa eller granulära färgande lymfocyterna bär receptorer till Fc-delen av IgG och överlappar i viss utsträckning T-suppressorcellpopulationen.

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
1801	α-naftylbutyratlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1804	Pararosanilinjösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1809	Natriumnitrittabletter	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
915	Citratlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1805	Fosfatbuffert	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1808	Metylenblått-lösning	Aktivitets-ställen	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.



- H226 Brandfarlig vätska och ånga.
- H272 Kan intensifiera eld; oxidationsmedel.
- H290 Kan vara frätande på metaller.
- H301 Giftigt vid förtäring.
- H312 + H332 Farligt vid hudkontakt eller inandning.
- H315 Orsakar hudirritation.
- H319 Orsakar allvarlig ögonirritation.
- H335 Kan orsaka irritation i luftvägarna.
- H350 Kan orsaka cancer.
- H370 Orsakar organskador (ögon).
- H400 Mycket giftigt för vattenlevande organismer.
- P210 Håll borta från värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
- P273 Undvik utsläpp i miljön.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddsläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P301 + P310 VID FÖRTÄRING: Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P312 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas utan problem. Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt.

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

- 1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specifierat "För yrkesmässigt bruk" under "Avsedd användning" och under "Försiktighetsåtgärder". Flyttat uttalandet "Hjälpmedel för diagnostisering" till "Avsedd användning". 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. Lagt till varningar och faror. Referenser till 181A-satsen har tagits bort. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Instruções de utilização

Kit de esterase de butirato de α-naftilo para linfócitos

Procedimento N.º 181



MERCK

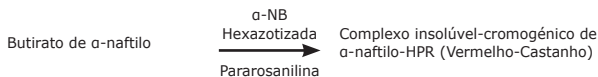
Utilização prevista

O kit de esterase de butirato de α-naftilo para linfócitos destina-se a ser utilizado como uma coloração histoquímica laboratorial geral para a deteção de α-naftil butirato esterase no sangue, em películas de medula óssea e em preparações de tecidos por contacto. O kit de esterase de butirato de α-naftilo para linfócitos destina-se a "Utilização para diagnóstico in vitro". Apenas para utilização profissional. Os dados obtidos a partir deste procedimento qualitativo manual servem apenas como auxiliares no diagnóstico de amostras humanas e devem ser revistos juntamente com outros testes ou informações de diagnóstico clínico.

A reação listada abaixo para esterase de butirato de α-naftilo também demonstrará atividade de esterase não específica em monócitos e macrófagos. Encontram-se disponíveis vários métodos diferentes para esta finalidade. O método listado abaixo não é específico para monócitos e macrófagos visto que o pH do meio de incubação foi ajustado para demonstrar um padrão de coloração focal (ponto) em alguns linfócitos. A esterase de butirato de α-naftilo é menos sensível do que o procedimento de esterase de acetato de α-naftilo. No caso de procedimentos mais sensíveis aos monócitos, a Sigma disponibiliza dois Kits de Esterase, N.º de catálogo 90A1 e 91A. Estes kits incluem também instruções para a demonstração da esterase de acetato de α-naftilo com inibição de fluoreto.

De acordo com as técnicas da Sigma-Aldrich, as preparações de citocentrífuga ou películas são fixadas numa solução de citrato-acetona-formaldeído. A esterase de butirato de α-naftilo é então visualizada através dos seguintes princípios de captura simultânea.

Esterase de butirato de α-naftilo



Reagentes

Solução de Butirato de α-naftilo (N.º de cat. 1801-50ML)

Butirato de α-naftilo, 2,4 g/l, em solução de metanol com solubilizantes.

Solução de Pararosnilina (N.º de cat. 1804-15ML)

Pararosnilina, 40 g/l, C.I. 42500, em 2 mol/l de ácido clorídrico. Perigo. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Pode causar cancro. Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

Pastilhas de Nitrito de sódio (N.º de cat. 1809-10TAB)

Nitrito de sódio, 250-260 mg por pastilha. Perigo. Pode agravar incêndios; comburente. Tóxico por ingestão. Provoca irritação ocular grave. Muito tóxico para a vida aquática. Manter/Armazenar afastado de roupa/matérias combustíveis. Evitar a libertação para o ambiente. EM CASO DE INGESTÃO: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

Solução de Citrato (N.º de cat. 915-50ML)

Ácido cítrico, 18 mmol/l, citrato de sódio, 9 mmol/l, cloreto de sódio, 12 mmol/l e tensoativo. O pH deve ser de 3,6 ± 0,1.

Tampão fosfato (N.º de cat. 1805-1VL)

Fosfato de sódio, 59,6 mM, fosfato de potássio, 7,1 mM.

Solução de Azul de metileno (N.º de cat. 1808-50ML)

Azul de metileno, C.I. 52015, 1,4% (p/v) em etanol 95%

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Acetona, Reagente ACS
- Formaldeído, 37%
- Banho-maria capaz de manter uma temperatura de 37 °C protegido da luz

Conservação e estabilidade

Conservar a solução de Butirato de α-naftilo no congelador a uma temperatura inferior a 0 °C. Aquecer a solução até uma temperatura de 37 °C e misturar bem antes de utilizar. Descartar se os reagentes ficarem amarelos ou caso se formem precipitados.

Conservar a Solução de pararosnilina, o Tampão fosfato, as Pastilhas de nitrito de sódio e a Solução de azul de metileno à temperatura ambiente (18-26 °C) e protegidos da luz.

Armazenar a solução em comprimidos de nitrito de sódio e a solução tampão de fosfato no frigorífico (2-8 °C).

As etiquetas dos reagentes têm data de validade.

A Solução de Citrato é adequada para uso na ausência de crescimento microbiano.

Deterioração

Eliminar a Solução de butirato de α-naftilo se a cor dos reagentes mudar para amarelo vivo ou se formar precipitado.

Eliminar a Solução de Pararosnilina se a cor da solução não mudar para âmbar após a adição da Solução de pastilhas de Nitrito de sódio.

A Solução de Tampão fosfato deve ser eliminada se surgir turbidez.

Preparação

Aquecer uma Solução de Butirato de α-naftilo a 37°C. A Solução de pastilhas de Nitrito de sódio, 4 g/dl, é preparada dissolvendo 1 pastilha em 6,25 ml de água desionizada. Conservar esta solução firmemente rolhada a uma temperatura de 2-8 °C. Aquecer até à temperatura ambiente antes da utilização. Eliminar se surgir turbidez.

A Solução de Tampão fosfato é preparada dissolvendo o conteúdo do Tampão fosfato em 500 ml de água desionizada. O tampão tem uma concentração de 0,067 mol/l, pH de 7,7 a 25 °C. Conservar no frigorífico (2-8 °C). Eliminar se for evidente crescimento microbiano.

Nota

O crescimento microbiano pode ser retardado por filtração através de uma Unidade de filtro de 0,22 micrones.

A Contracoloração de azul de metileno é preparada adicionando 5 ml de Solução de azul de metileno a 45 ml de água desionizada. Misturar bem. Preparar a solução de fresco diariamente.

Fixador de citrato-acetona-formaldeído: A 25 ml de Solução de citrato, adicionar 65 ml de Acetona e 8 ml de Formaldeído a 37%. Colocar em frasco de vidro e tapar firmemente. Conservar no frigorífico (2-8 °C). Aquecer até 18-26 °C antes de utilizar. Estável se conservado firmemente tapado no frigorífico.

Precauções

Os DIV incluídos neste kit 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.

As amostras podem ser colhidas em EDTA ou heparina. Após a fixação, é possível conservar as lâminas à temperatura ambiente durante, pelo menos, 2 semanas. Se as células mononucleares forem isoladas usando HISTOPAQUE®-1077, a separação deve ser realizada no prazo de 4 horas, embora tenha sido observada uma recuperação justa após 24 horas.¹ Não se recomenda a utilização de películas de sangue, particularmente de indivíduos leucopénicos, para estes procedimentos, uma vez que a avaliação deste material é bastante demorada. Deve utilizar a citocentrífuga ou preparações de camada leuco-plaquetária. As películas de medula óssea e as preparações por contacto de tecido não colocam problemas no que diz respeito à avaliação microscópica.

Notas

Devem ser incluídas células de doadores saudáveis em cada teste.

As células isoladas em gradientes de polisucrose-diatrizoato de sódio podem ser armazenadas em azoto líquido (LN₂) para efeitos de controlo. Para realizar isto, 1 x 10⁷ - 10⁸ células são congeladas a 1 ± 0,3 °C por minuto num meio contendo 50% de soro fetal de bezerro, 40% de RPMI-1640 (ou outros fluidos apropriados de cultura de tecidos) e 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Podem ser conservadas na fase líquida ou de vapor do LN₂.

As lâminas devem ser avaliadas usando uma ampliação de 1000X. Os filtros de didímio podem melhorar a cor, particularmente do α-NB que produz uma coloração difusa.

Procedimento

1. Pré-aquecer a Solução de Tampão fosfato até uma temperatura de 37 °C.
2. Imediatamente antes da fixação, adicionar 1,5 ml de Solução de pastilhas de Nitrito de sódio a 1,5 ml de Solução de Pararosnilina. Misturar suavemente por inversão e deixar repousar durante, pelo menos, 5 minutos e, em seguida, adicionar a 40 ml de Solução de Tampão fosfato pré-aquecida.
3. Adicionar 5 ml de Solução de Butirato de α-naftilo.
4. Misturar bem e verter para a jarra de Coplin. A solução será cor de âmbar. A formação de precipitado indica a deterioração do reagente.
5. Fixar as lâminas durante 10 segundos num Fixador de citrato-acetona-formaldeído à temperatura ambiente (18-26 °C). Enxaguar em água desionizada durante 45 segundos. Não permitir que as lâminas sequem.
6. Imediatamente após enxaguar, colocar lâminas na solução do Passo 4 e incubar durante 1 hora a 37 °C. **Nota:** Se não colocar as lâminas na solução de incubação após a fixação, deve deixar as lâminas a secar ao ar durante, pelo menos, 45 minutos.
7. Após 1 hora, retirar as lâminas da jarra de Coplin e enxaguar durante 2-3 minutos em água da torneira corrente. Eliminar a solução de coloração.
8. Deixar as lâminas a secar ao ar durante, pelo menos, 15 minutos antes da contracoloração.
9. Efetuar a contracoloração durante 5 minutos com a Contracoloração de azul de metileno.
10. Enxaguar em água desionizada.

Características do desempenho

O padrão de coloração focal (ponto) observado em alguns linfócitos está associado a células T maduras portadoras de recetores Fc para IgM. Este subconjunto sobrepõe-se em certa medida à população de células T auxiliares, mas não é uma medida exata da função auxiliar. Os linfócitos de coloração difusa ou granular têm recetores para a porção Fc de IgG e sobrepõem-se em certa medida à população de células supressoras de T.

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
1801	Solução de Butirato de α-naftilo	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1804	Solução de Pararosanilina	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1809	Pastilhas de Nitrato de sódio	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
915	Solução de Citrato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1805	Tampão fosfato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
1808	Solução de Azul de metileno	Locais de atividade	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.



- H226 Líquido e vapor inflamáveis.
- H272 Pode agravar incêndios; comburente.
- H290 Pode ser corrosivo para os metais.
- H301 Tóxico por ingestão.
- H312 + H332 Nocivo em contacto com a pele ou por inalação.
- H315 Provoca irritação cutânea.
- H319 Provoca irritação ocular grave.
- H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias.
- H350 Pode provocar cancro.
- H370 Afeta os órgãos (olhos).
- H400 Muito tóxico para os organismos aquáticos.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar. Não fumar.

P273 Evitar a libertação para o ambiente.

P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P301 + P310 EM CASO DE INGESTÃO: Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

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 + P312 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Histórico de revisões

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Declaração de auxiliar de diagnóstico movida para a utilização prevista. 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. Adição de Advertências e Perigos. Eliminadas as referências ao kit 181A. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Οδηγίες χρήσης

Κιτ α-ναφθυλ-βουτυρικής εστεράσης λεμφοκυττάρων

Διαδικασία αρ. 181



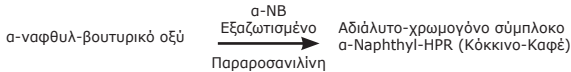
Προοριζόμενη χρήση

Το κιτ α-ναφθυλ-βουτυρικής εστεράσης λεμφοκυττάρων προορίζεται για χρήση ως γενική εργαστηριακή ιστοχημική χρώση για την ανίχνευση της α-ναφθυλ-βουτυρικής εστεράσης στο αίμα, σε φιλμ μυελού των οστών και σε παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας. Το κιτ α-ναφθυλ-βουτυρικής εστεράσης λεμφοκυττάρων προορίζεται για «In vitro διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Τα δεδομένα που λαμβάνονται από αυτήν τη μη αυτόματη ποιοτική διαδικασία χρησιμεύουν μόνο ως βοήθημα για τη διάγνωση ανθρώπινων δειγμάτων και θα πρέπει να εξετάζονται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

Η αντίδραση που παρατίθεται παρακάτω για την α-ναφθυλ-βουτυρική εστεράση θα δείχνει επίσης τη δραστηριότητα της μη ειδικής εστεράσης στα μονοκύτταρα και μακροφάγα. Πολλές διαφορετικές μέθοδοι διατίθενται για αυτόν τον σκοπό. Η μέθοδος που παρατίθεται παρακάτω δεν είναι ειδική για τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, καθώς το pH των μέσων επώσης έχει ρυθμιστεί για την ανάδειξη ενός εστιακού μοτίβου χρώσης (κουκκίδα) σε ορισμένα λεμφοκύτταρα. Η α-ναφθυλ-βουτυρική εστεράση είναι λιγότερο ευαίσθητη από τη διαδικασία της α-ναφθυλ-οξικής εστεράσης. Για διαδικασίες πιο ευαίσθητες στα μονοκύτταρα, η Sigma προσφέρει δύο κιτ εστεράσης, με αρ. καταλόγου 90A1 και 91A. Αυτά τα κιτ περιλαμβάνουν επίσης οδηγίες για την αναγνώριση της α-ναφθυλ-οξικής εστεράσης με αναστολή φθορίου.

Σύμφωνα με τις τεχνικές της Sigma-Aldrich, τα παρασκευάσματα ή φιλμ κυτταρο-φυγοκέντρησης μονιμοποιούνται σε διάλυμα κιτρικού-ακετόνης-φορμαλδεΐδης. Κατόπιν, η α-ναφθυλ-βουτυρική εστεράση λεμφοκυττάρων οπτικοποιείται με τις ακόλουθες αρχές ταυτόχρονης αποτύπωσης.

α-ναφθυλ-βουτυρική εστεράση



Αντιδραστήρια

Διάλυμα α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος (Αρ. κατ. 1801-50ML)
α-ναφθυλ-βουτυρικό οξύ, 2,4 g/L, σε διάλυμα μεθανόλης με διαλυτοποιητές

Διάλυμα παραροσανιλίνης (Αρ. καταλόγου 1804-15ML)
Παραροσανιλίνη, 40 g/L, CI 42500, σε 2 mol/L υδροχλωρικό οξύ. Κίνδυνος. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού. Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Αναφυγείτε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.

Δισκία νιτρώδους νατρίου (Αρ. καταλόγου 1809-10TAB)
Νιτρώδες νάτριο, 250-260 mg ανά δισκίο. Κίνδυνος. Μπορεί να αναζωπυρώσει την πυρκαγιά· οξειδωτικό. Τοξικό σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς. Να φυλάσσεται μακριά από ενδύματα και άλλα καύσιμα υλικά. Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή έναν γιατρό.

Κιτρικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 915-50ML)
Κιτρικό οξύ, 18 mmol/L, κιτρικό νάτριο, 9 mmol/L, χλωριούχο νάτριο, 12 mmol/L, και επιφανειοδραστικό. Το pH πρέπει να είναι 3,6 ± 0,1.

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (Αρ. καταλόγου 1805-1VL)
Φωσφορικό νάτριο, 59,6 mM, φωσφορικό κάλιο, 7,1 mM.

Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου (Αρ. κατ. 1808-50ML)
Κυανό του μεθυλενίου, C.I. 52015, 1,4% (w/v) σε 95% αιθανόλη

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Ακετόνη, αντιδραστήριο ACS
- Φορμαλδεΐδη, 37%
- Υδατόλουτρο ικανό να διατηρεί θερμοκρασία 37 °C, προστατευμένο από το φως

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος σε καταψύκτη σε θερμοκρασία κάτω των 0 °C. Θερμάνετε το διάλυμα στους 37 °C και αναμείξτε καλά πριν από τη χρήση. Απορρίψτε εάν τα αντιδραστήρια κιντρινίσουν ή εάν σχηματιστεί ίζημα.

Φυλάσσετε το διάλυμα παραροσανιλίνης, το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, τα δισκία νιτρώδους νατρίου και το διάλυμα κυανού του μεθυλενίου σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C), προστατευμένα από το φως.

Φυλάσσετε το διάλυμα δισκίου νιτρώδους νατρίου και το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών σε ψυγείο (2–8 °C).

Οι ετικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρουν την ημερομηνία λήξης.

Το κιτρικό διάλυμα είναι κατάλληλο για χρήση απουσία μικροβιακής ανάπτυξης.

Αλλοίωση

Απορρίψτε το διάλυμα α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος, εάν το αντιδραστήριο αποκτήσει έντονο κίτρινο χρώμα ή εάν σχηματιστεί ίζημα.

Απορρίψτε το διάλυμα παραροσανιλίνης, εάν το διάλυμα δεν γίνει πορτοκαλί μετά την προσθήκη του διαλύματος δισκίων νιτρώδους νατρίου.

Το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών θα πρέπει να απορρίπτεται εάν αναπτυχθεί θολερότητα.

Παρασκευή

Θερμάνετε το διάλυμα α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος στους 37 °C. Το διάλυμα δισκίου νιτρώδους νατρίου 4 g/dL παρασκευάζεται διαλύοντας 1 δισκίο σε 6,25 mL αποιονισμένου νερού. Φυλάξτε αυτό το διάλυμα με το καπάκι ερμητικά κλειστό στους 2–8 °C. Θερμάνετε σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Απορρίψτε εάν αναπτυχθεί θολερότητα.

Το ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών παρασκευάζεται διαλύοντας τα περιεχόμενα του ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών σε 500 mL αποιονισμένου νερού. Το ρυθμιστικό διάλυμα έχει συγκέντρωση 0,067 mol/L, pH 7,7 στους 25 °C. Φυλάσσετε σε ψυγείο (2–8 °C). Απορρίψτε εάν υπάρχει ένδειξη ανάπτυξης μικροβίων.

Σημείωση

Η ανάπτυξη μικροβίων μπορεί να επιβραδυνθεί με διήθηση μέσω μονάδας φίλτρου 0,22 micron.

Η αντίχρωση κυανού του μεθυλενίου παρασκευάζεται προσθέτοντας 5 mL διαλύματος κυανού του μεθυλενίου σε 45 mL αποιονισμένου νερού. Αναμείξτε καλά. Παρασκευάζετε φρέσκο καθημερινά.

Μονιμοποιητικό κιτρικού-ακετόνης-φορμαλδεΐδης: Σε 25 mL κιτρικού διαλύματος προσθέστε 65 mL ακετόνης και 8 mL φορμαλδεΐδης 37%. Τοποθετήστε σε γυάλινη φιάλη και κλείστε ερμητικά το καπάκι. Φυλάσσετε σε ψυγείο (2–8 °C). Θερμάνετε στους 18–26 °C πριν από τη χρήση. Σταθερό, εάν φυλαχθεί σε ψυγείο με το καπάκι ερμητικά κλειστό.

Προφυλάξεις

Τα βοηθήματα IVD που περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ 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 συνήθειες προφυλάξεων κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Καμία γνωστή μέθοδος δοκιμίας 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.

Τα δείγματα μπορούν να συλλεχθούν είτε σε EDTA είτε σε ηπαρίνη. Μετά τη μονιμοποίηση, οι αντικειμενοφόροι μπορούν να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 2 εβδομάδες. Εάν πρόκειται να απομονωθούν μονοπύρνα κύτταρα χρησιμοποιώντας HISTOPLAQUE®-1077, ο διαχωρισμός θα πρέπει να γίνει εντός 4 ωρών, αν και έχει παρατηρηθεί ακριβής ανάκτηση μετά από 24 ώρες.¹ Τα φιλμ αίματος, ιδίως από άτομα με λευκοπενία, δεν συνιστώνται για αυτές τις διαδικασίες, καθώς η αξιολόγηση αυτού του υλικού είναι αρκετά χρονοβόρα. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σκευάσματα κυτταρο-φυγοκέντρησης ή λευκής στίβδας. Τα φιλμ μυελού των οστών και τα παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας δεν δημιουργούν προβλήματα στη μικροσκοπική αξιολόγηση.

Σημειώσεις

Σε κάθε δοκιμασία θα πρέπει να περιλαμβάνονται κύτταρα από υγιείς δότες.

Κύτταρα που απομονώνονται σε βαθμιδώσεις πολυασκαρδής-διατριζοϊκού νατρίου μπορούν να αποθηκευτούν σε υγρό άζωτο (LN₂) για σκοπούς ελέγχου. Για να επιτευχθεί αυτό, 1 x 10⁷ - 10⁸ κύτταρα καταψύχονται στους 1 ± 0,3 °C ανά λεπτό σε ένα μέσο που περιέχει 50% ορό εμβρύου μύσου, 40% RPMI-1640 (ή άλλα κατάλληλα υγρά ισοκαλιέργειας) και 10% διμεθυλοσουλφοξειδίου (DMSO). Μπορούν να αποθηκευτούν είτε στην υγρή είτε στην αέρια φάση του LN₂.

Οι αντικειμενοφόροι θα πρέπει να αξιολογούνται χρησιμοποιώντας μεγέθυνση 1000X. Τα φίλτρα διδύμου μπορούν να ενισχύσουν το χρώμα, ιδίως της α-NB διάχυτης χρώσης.

Διαδικασία

1. Προθερμάνετε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών στους 37 °C.
2. Αμέσως πριν από τη μονιμοποίηση, προσθέστε 1,5 mL διαλύματος δισκίου νιτρώδους νατρίου σε 1,5 mL διαλύματος παραροσανιλίνης. Αναμείξτε ήπια με αναστροφή και αφήστε το μείγμα να παραμείνει σε ηρεμία για τουλάχιστον 5 λεπτά. Κατόπιν, προσθέστε σε 40 mL προθερμασμένο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών.
3. Προσθέστε 5 mL διαλύματος α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος.
4. Αναμείξτε καλά και ρίξτε σε δοχείο Corlin. Το διάλυμα θα είναι πορτοκαλί. Ο σχηματισμός ιζήματος υποδηλώνει αλλοίωση του αντιδραστηρίου.
5. Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους για 10 δευτερόλεπτα σε μονιμοποιητικό κιτρικού-ακετόνης-φορμαλδεΐδης σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Ξεπλύνετε σε αποιονισμένο νερό για 45 δευτερόλεπτα. Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν.
6. Αμέσως μετά το ξέπλυμα, τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους στο διάλυμα από το Βήμα 4 και επωάστε για 1 ώρα στους 37 °C. **Σημείωση:** Εάν οι αντικειμενοφόροι δεν τοποθετηθούν σε διάλυμα επώσης μετά τη μονιμοποίηση, πρέπει να αφεθούν να στεγνώσουν στον αέρα για τουλάχιστον 45 λεπτά.
7. Μετά από 1 ώρα, αφαιρέστε τις αντικειμενοφόρους από το δοχείο Corlin και ξεπλύνετε για 2–3 λεπτά σε τρεχούμενο νερό βρύσης. Απορρίψτε το διάλυμα χρώσης.
8. Αφήστε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν στον αέρα για τουλάχιστον 15 λεπτά πριν την αντίχρωση.
9. Πραγματοποιήστε αντίχρωση για 5 λεπτά σε αντίχρωση κυανού του μεθυλενίου.
10. Ξεπλύνετε σε αποιονισμένο νερό.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Το μοτίβο εστιακής χρώσης (κουκκίδα) που παρατηρείται σε ορισμένα λεμφοκύτταρα σχετίζεται με ώριμα T-κύτταρα που φέρουν υποδοχείς Fc για IgM. Αυτό το υποσύνολο επικαλύπτει τον πληθυσμό των βοηθητικών T-κυττάρων σε κάποιο βαθμό, αλλά δεν αποτελεί ακριβή μέτρηση της λειτουργίας των βοηθητικών κυττάρων. Τα λεμφοκύτταρα με διάχυτη ή κοκκώδη χρώση φέρουν υποδοχείς στο τμήμα Fc της IgG και επικαλύπτουν σε κάποιο βαθμό τον πληθυσμό των κατασταλακτικών T-κυττάρων.

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. κατα-λόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
1801	Διάλυμα α-ναφθυλ-βουτυρικού οξέος	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
1804	Διάλυμα παραρο-σινιλίνης	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
1809	Δισκία νιτρώδους νατρίου	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
915	Κιτρικό διάλυμα	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
1805	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
1808	Διάλυμα κυανού του μεθυλενίου	Σημεία δραστηριότητας	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 οποιαδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφάλειας.



- H226 Υγρό και ατμίο εύφλεκτα.
- H272 Μπορεί να αναζωπυρώσει την πυρκαγιά· οξειδωτικό.
- H290 Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.
- H301 Τοξικό σε περίπτωση κατάποσης.
- H312 + H332 Επιβλαβές σε επαφή με το δέρμα ή σε περίπτωση εισπνοής.
- H315 Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.
- H319 Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.
- H335 Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.
- H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.
- H370 Προκαλεί βλάβες στα όργανα (μάτια).
- H400 Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς.
- P210 Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.
- P273 Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.
- P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P301 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.
- 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 + P312 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό, αν αισθανθείτε αδιαθεσία.

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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Αναθ. 4.0	2016
Αναθ. 5.0	2023

Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η δήλωση βοηθήματος για διάγνωση μεταφέρθηκε στην προοριζόμενη χρήση. 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 ανεπιθύμητα συμβάντα. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Αφαιρέθηκαν οι αναφορές στο kit 181A. 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.

Használati utasítás

Limfocita α-naftil-butirát-észteráz készlet

181. sz. eljárás



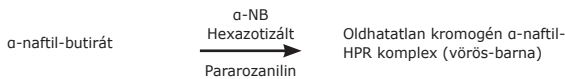
Rendeltetésszerű használat

A limfocita α-naftil-butirát-észteráz készlet a vérkenetekben, csontvelőkenetekben és szövetlenyomat-preparátumokban lévő α-naftil-butirát-észteráz kimutatására szolgáló általános laboratóriumi hisztokémiai festék. A limfocita α-naftil-butirát-észteráz készlet „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Kizárólag professzionális használatra. A manuális, kvalitatív eljárásból nyert adatok kizárólag az emberi szövetminták diagnosztizálásának elősegítésére szolgálnak, és az eredmények áttekintése során figyelembe kell venni más klinikai diagnosztikai vizsgálatokat és információkat is.

Az α-naftil-butirát-észteráz esetében az alábbiakban felsorolt reakció nem specifikus észterázaktivitást is kimutat a monocitákban és a makrofágokban. Erre a célra számos különböző módszer áll rendelkezésre. Az alább felsorolt módszer nem monocita- és makrofágspecifikus, mivel az inkubálóközeg pH-ját úgy állították be, hogy néhány limfocitában fokális (pontoszerű) festődési mintázatot mutasson ki. Az α-naftil-butirát-észteráz eljárás kevésbé érzékeny, mint az α-naftil-acetát-észteráz eljárás. A monocitákra érzékenyebb eljárásokhoz a Sigma két észterázkészletet kínál; katalógusszám: 90A1 és 91A. Ezek a készletek az α-naftil-acetát-észteráz fluoridgátlással történő kimutatására vonatkozó utasításokat is tartalmaznak.

A Sigma-Aldrich technikái alapján a sejtcentrifugált készítményeket vagy keneteket citrát-aceton-formaldehid oldatban kell rögzíteni. Az α-naftil-butirát-észteráz a következő, egyidejű rögzítési elvek alapján kell megjeleníteni.

α-naftil-butirát-észteráz



Reagens

α-naftil-butirát oldat (kat. sz.: 1801-50ML)

α-naftil-butirát, 2,4 g/l, metanolos oldatban, oldószerekkel.

Pararozanilin oldat (kat. sz.: 1804-15ML)

Pararozanilin, 40 g/l, C.I. 42500, 2 mol/l sósavban. Vesély. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Légúti irritációt okozhat. Rákot okozhat. Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/ permet belélegzését.

Nátrium-nitrit tabletták (kat. sz.: 1809-10TAB)

Nátrium-nitrit, 250–260 mg tablettánként. Vesély. Fokozhatja a tűz intenzitását; oxidáló hatású. Nyelvvel mérgező. Súlyos szemirritációt okoz. Nagyon mérgező a vízi élővilágra. Ruhától és más éghető anyagoktól távol tartandó. Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. **LENYELÉS ESETÉN:** Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

Citrátoldat (kat. sz.: 915-50ML)

Citromsav, 18 mmol/l, nátrium-citrát, 9 mmol/l, nátrium-klorid, 12 mmol/l és felületaktív anyag. A pH-érték 3,6 ±0,1 kell, hogy legyen.

Foszfátpuffer (kat. sz.: 1805-1VL)

Nátrium-foszfát, 59,6 mM, kálium-foszfát, 7,1 mM.

Metilénkék oldat (kat. sz.: 1808-50ML)

Metilénkék, C.I. 52015, 1,4% (w/v) 95%-os etanolban

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Aceton, ACS-reagensminőség
- Formaldehid, 37%
- 37 °C-os, fénytől védett vízfürdő

Tárolás és stabilitás

Az α-naftil-butirát oldat fagyasztoóban, 0 °C alatt tárolandó. Melegítse az oldatot 37 °C-osra, és alaposan keverje össze a használat előtt. Ha a reagens sárga színűvé válnak vagy csapadék képződik bennük, dobja ki őket.

A pararozanilin oldatot, a foszfátpuffert, a nátrium-nitrit tablettát és a metilénkék oldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C), fénytől védve kell tárolni.

A nátrium-nitrit tablettát és a foszfátpuffer-oldatot hűve (2–8 °C) tárolja.

A lejárató idő a reagenscímkéken szerepel.

A citrátoldat mikrobiális növekedés hiányában használható.

Bomlás

Dobja ki az α-naftil-butirát oldatot, ha a reagens világossárgává válik vagy csapadék képződik benne.

Dobja ki a pararozanilin oldatot, ha a nátrium-nitrit tablettát oldatának hozzáadásakor az oldat nem válik borostyánsárgává.

Ha zavarossá válnak, dobja ki a foszfátpuffer-oldatot.

Előkészítés

Melegítse az α-naftil-butirát oldatot 37 °C-osra. A nátrium-nitrit tablettát oldatát (4 g/dl) 1 tablettát 6,25 ml ioncserélt vízben történő feloldásával kell elkészíteni. Az oldatot szorosan lezárva, 2–8 °C-os hőmérsékleten kell tárolni. Használat előtt melegítse szobahőmérsékletre. Ha zavarossá válnak, dobja ki az oldatokat.

A foszfátpufferoldatot a foszfátpuffer tartalmának 500 ml ioncserélt vízben történő feloldásával kell elkészíteni. A puffer koncentrációja 0,067 mol/l, pH-ja 7,7 25 °C-on. Hűtőszekrényben tárolandó (2–8 °C). Ha egyértelműen mikrobiális növekedés jelei tapasztalhatók, dobja ki.

Megjegyzés

A mikrobiális növekedés 0,22 mikronos szűrőegységen keresztül történő szűréssel kiséltethető.

A metilénkék ellenfesték elkészítéséhez adjon 5 ml metilénkék oldatot 45 ml ioncserélt vízhez. Jól keverje össze. Naponta frissen készítendő.

Citrát-aceton-formaldehid rögzítőoldat: 25 ml citrátoldathoz adjon 65 ml acetont és 8 ml 37%-os formaldehidet. Tegye üvegtartályba, és szorosan zárja le kupakkal. Hűtőszekrényben tárolandó (2–8 °C). Használat előtt melegítse 18–26 °C-ra. Hűtőszekrényben, szorosan lezárva tárolva stabil.

Óvintézkedések

A készletben található *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 látéssélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

A laboratóriumi reagens kezelés 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.

A minták EDTA-ban vagy heparinban gyűjthetők. A rögzítés után a tárgylemezek legalább 2 hétig tárolhatók szobahőmérsékleten. Ha a mononukleáris sejteket a HISTOPAQUE®-1077 segítségével fogják izolálni, az elválasztást 4 órán belül el kell végezni, habár 24 óra elteltével is megfigyeltek megfelelő regenerálást.¹ Az ilyen eljárásokhoz nem javasolt a (különösen leukopéniás egyénektől származó) véreket használata, mivel ezen anyag értékelése meglehetősen időigényes. Sejtcentrifugált vagy határtegeből (buffy coat) kinyert preparátumokat kell alkalmazni. A csontvelőkenetek és a szövetlenyomat-preparátumok nem jelentenek problémát a mikroszkópos értékelés szempontjából.

Megjegyzések

Minden vizsgálatba be kell vonni egészséges donorok sejtjeit is.

A poliszacharóz-nátrium-diatrizoát gradienssel izolált sejtek ellenőrzési célból folyékony nitrogénben (LN₂) tárolhatók. Ennek érdekében 1 × 10⁷–10⁸ sejtet kell lefagyasztani 1 ± 0,3 °C/perc sebességgel 50% magzati szarvasmarhaszérumot, 40% RPMI-1640-et (vagy más megfelelő szövettenyésztéshez használt folyadékot) és 10% dimetil-szulfoxidot (DMSO) tartalmazó közegben. Ezeket az LN₂ folyadék- vagy gőzfázisban lehet tárolni.

A tárgylemezeket 1000-szeres nagyítással kell értékelni. A didímiuszűrők kiemelhetik a szint, különösen diffúz α-NB festődés esetén.

Eljárás

- Melegítse elő a foszfátpufferoldatot 37 °C-ra.
- Közvetlenül a rögzítés előtt adjon 1,5 ml nátrium-nitrit oldatot 1,5 ml pararozanilin oldathoz. Megfordítással óvatosan keverje össze, és hagyja állni legalább 5 percig, majd adja hozzá 40 ml előmelegített foszfátpufferoldathoz.
- Adjon hozzá 5 ml α-naftil-butirát oldatot.
- Alaposan keverje össze, és öntse küvetába. Az oldat borostyán színű lesz.
- A csapadékképződés a reagens bomlását jelzi.
- Rögzítse a tárgylemezeket 10 másodpercig citrát-aceton-formaldehid rögzítőoldatban szobahőmérsékleten (18–26 °C). Öblítse őket ioncserélt vízben 45 másodpercig. Ne hagyja, hogy a lemezek megszáradjanak.
- Öblítés után azonnal helyezze a tárgylemezeket a 4. lépésben leírt oldatba, és inkubálja 1 órán keresztül 37 °C-on. **Megjegyzés:** Ha a lemezeket a rögzítés után nem helyezik az inkubációs oldatba, legalább 45 percig hagyni őket levegőn megszáradni.
- 1 óra elteltével vegye ki a lemezeket a küvetából, és 2–3 percig öblítse folyó csapvízzel.
- Hagyja a tárgylemezeket legalább 15 percig levegőn száradni az ellenfestés előtt.
- Végezzen ellenfestést 5 percig a metilénkék ellenfestékben.
- Öblítsen ioncserélt vízzel.

Teljesítményjellemzők

Az egyes limfocitákban megfigyelt fokális (pontoszerű) festődési minta összefüggésbe hozható az IgM Fc-receptorait hordozó érett T-sejtekkel. Ez az alcsoport bizonyos mértékig átfed a T-helper sejtpopulációval, de nem pontos mértéke a helper funkcióknak. A diffúzan vagy szemcsésen festődő limfociták az IgG Fc részéhez kapcsolódó receptorokat hordoznak, és bizonyos mértékig átfednek a T-szuppresszor sejtpopulációval.

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% érzékenységet, specificitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
1801	o-naftil-butirát oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
1804	Pararozanilin oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
1809	Nátrium-nitrit tabletták	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
915	Citrátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
1805	Foszfátpuffer	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
1808	Metilénkék oldat	Aktivitás helye	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.



H226 Tűzveszélyes folyadék és gőz.

H272 Fokozhatja a tűz intenzitását; oxidáló hatású.

H290 Fémekre korrozív hatású lehet.

H301 Lenyelve mérgező.

H312 + H332 Bőrrel érintkezve vagy belélegezve ártalmas.

H315 Bőrirritáló hatású.

H319 Súlyos szemirritációt okoz.

H335 Légúti irritációt okozhat.

H350 Rákot okozhat.

H370 Károsíthatja a szerveket (szemet).

H400 Nagyon mérgező a vízi élővilágra.

P210 Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

P273 Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P301 + P310 LENYELÉS ESETÉN: Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P303 + P361 + P353 HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel.

P304 + P340 + P312 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Rosszullet esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

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

- Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

Elérhetőségek

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

Átdolgozási előzmények

Rev.: 3.0	2014
Rev.: 4.0	2016
Rev.: 5.0	2023

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A diagnózishoz nyújtott segítségről szóló nyilatkozat áthelyezése a rendeltetésszerű használatához. 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. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. A 181A készletre vonatkozó hivatkozások eltávolítása. 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” kezdőbetűű 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

Souprava na esterázu α -naftylbutyrátu z lymfocytů

Postup č. 181



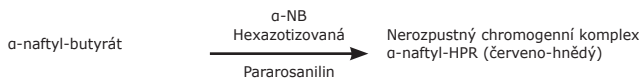
Určené použití

Lymfocytární souprava α -naftylbutyrát esterázy je určena k použití jako obecné laboratorní histochemické barvení pro detekci α -naftylbutyrát esterázy v krvi, filmech kostní dřevě a tkáňových dotykových preparátech. Lymfocytární souprava α -naftylbutyrát esterázy je určena pro „diagnostické použití in vitro“. Pouze pro profesionální použití. Údaje získané z tohoto manuálního kvalitativního postupu slouží pouze jako pomůcka pro diagnostiku lidských vzorků a měly by být přezkoumány společně s dalšími klinickými diagnostickými testy nebo informacemi.

Níže uvedená reakce na α -naftyl-butyrát esterázu také prokáže nespecifickou aktivitu esterázy v monocytech a makrofázích. Pro tento účel je k dispozici několik různých metod. Níže uvedená metoda není specifická pro monocyty a makrofágy, protože pH inkubačního média bylo upraveno tak, aby u některých lymfocytů vykazovalo fokální (tečkované) zbarvení. α -naftyl-butyrát esteráza je méně citlivá než α -naftyl-acetát esteráza. Pro postupy citlivější na monocyty nabízí společnost Sigma dvě soupravy esterázy, katalogové č. 90A1 a 91A. Tyto soupravy rovněž obsahují pokyny pro prokázání α -naftyl-acetát esterázy s inhibicí fluoridů.

Podle technik společnosti Sigma-Aldrich se cytocentrifugační přípravky nebo nátěry fixují v roztoku citrátu, acetonu a formaldehydu. α -naftylbutyrát esteráza se pak vizualizuje pomocí následujících principů simultánního zachytu.

α -naftyl-butyrát esteráza



Činidla

Roztok α -naftyl-butyrátu (kat. č. 1801-50ML)

α -naftyl-butyrát, 2,4 g/l, v methanolovém roztoku s rozpouštědly

Roztok pararosanilinu (kat. č. 1804-15ML)

Pararosnilin, 40 g/l, C.I. 42500, ve 2 mol/l kyseliny chlorovodíkové. Nebezpečí. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Může způsobit podráždění dýchacích cest. Může způsobit rakovinu. Nevdechujte prach / dým / plyn / mlhu / výpary / aerosol.

Tablety dusitanu sodného (kat. č. 1809-10TAB)

Dusitan sodný, 250-260 mg v jedné tabletě. Nebezpečí. Může zesílit oheň; oxidační činidlo. Toxický při požití. Způsobuje vážné podráždění očí. Velmi toxický pro vodní organismy. Uchovávejte/ skladujte mimo dosah oděvů / hořlavých materiálů. Zabraňte uvolňování do životního prostředí. V PŘÍPADĚ POŽŘENÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře.

Roztok citrátu (kat. č. 915-50ML)

Kyselina citronová, 18 mmol/l, citronan sodný, 9 mmol/l, chlorid sodný, 12 mmol/l a povrchově aktivní látka. pH by mělo být 3,6 $\pm$ 0,1.

Fosfátový pufr (kat. č. 1805-1VL)

Fosforečnan sodný, 59,6 mM, fosforečnan draselný, 7,1 mM.

Roztok methylenové modři (kat. č. 1808-50ML)

Methylenová modř, CI 52015, 1,4% (m/V) v 95% ethanolu

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Aceton, ACS činidlo
- Formaldehyd, 37%
- Vodní lázeň schopná udržovat teplotu 37 °C chráněná před světlem

Skladování a stabilita

Roztok α -naftylbutyrátu uchovávejte v mrazničce při teplotě pod 0 °C. Roztoky zahřejte na 37 °C a před použitím dobře promíchejte. Pokud činidla zežloutnou nebo se vytvoří sraženina, zlikvidujte je.

Uchovávejte roztok pararosanilinu, fosfátový pufr, tablety dusitanu sodného a roztok methylenové modři při pokojové teplotě (18–26 °C) a chraňte je před světlem.

Roztok tablet dusitanu sodného a roztok fosfátového pufru uchovávejte v chladu (2–8 °C).

Na štítkách činidel je uvedeno datum spotřeby.

Roztok citrátu je vhodný pro použití, pokud nedochází k mikrobiálnímu růstu.

Znehodnocení

Pokud se činidlo zbarví jasně žlutě nebo se vytvoří sraženina, roztok α -naftylbutyrátu zlikvidujte.

Pokud se roztok po přidání tabletového roztoku dusitanu sodného nezbarví do jantarové barvy, roztok pararosanilinu zlikvidujte.

Roztok fosfátového pufru by se měl zlikvidovat, pokud se objeví zákal.

Příprava

Zahřejte roztok α -naftylbutyrátu na 37 °C. Roztok tablety dusitanu sodného, 4 g/dl, se připraví rozpustěním 1 tablety v 6,25 ml deionizované vody. Uchovávejte tento roztok pevně zasklávaný při teplotě 2–8 °C. Před použitím zahřejte na pokojovou teplotu. Pokud se objeví zákal, zlikvidujte je.

Roztok fosfátového pufru se připraví rozpustěním obsahu fosfátového pufru v 500 ml deionizované vody. Pufr má koncentraci 0,067 mol/l, pH 7,7 při 25 °C. Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Pokud je patrný mikrobiální růst, pufr zlikvidujte.

Poznámka

Mikrobiální růst může být zpomalen filtrací přes 0,22 mikronovou filtrační jednotku.

Kontrastní barvivo methylenové modři se připraví přidáním 5 ml roztoku methylenové modři do 45 ml deionizované vody. Dobře promíchejte. Připravujte denně čerstvé.

Fixační prostředek citrát-aceton-formaldehyd: Do 25 ml roztoku citrátu přidejte 65 ml acetonu a 8 ml 37% formaldehydu. Vložte do skleněné lahvičky a pevně uzavřete. Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Před použitím zahřejte na 18–26 °C. Stabilitní, pokud je uchován pevně uzavřený v chladničce.

Bezpečnostní opatření

Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro obsažené v této soupravě 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.

Vzorky mohou být odebrány buď v EDTA, nebo v heparinu. Po fixaci mohou být sklíčka uchovávána při pokojové teplotě po dobu nejméně 2 týdnů. Pokud mají být mononukleární buňky izolovány pomocí přípravku HISTOPAQUE®-1077, měla by být separace provedena do 4 hodin, ačkoli po 24 hodinách byla zaznamenána odpovídající obnova.¹ Krevní nátěry se pro tyto postupy nedoporučují, zejména u leukopenických osob, protože vyhodnocení tohoto materiálu je poměrně časově náročné. Měly by být použity cytocentrifugační nebo buffy coat přípravky. Nátěry z kostní dřevě a tkáňové preparáty nepředstavují žádný problém, pokud jde o mikroskopické hodnocení.

Poznámky

Do každého testu by měly být zahrnuty buňky od zdravých dárců.

Buňky izolované na gradientech polysacharózy a diatrizoátu sodného mohou být pro kontrolní účely skladovány v kapalném dusíku (LN₂). Za tímto účelem se zmrazí 1 x 10⁷–10⁸ buněk při 1 $\pm$ 0,3 °C za minutu v médiu obsahujícím 50 % fetálního telecího séra, 40 % RPMI-1640 (nebo jiných vhodných kapalin pro tkáňové kultury) a 10 % dimethylsulfoxidu (DMSO). Mohou být skladovány buď v kapalně, nebo parní fázi LN₂.

Snímky by měly být vyhodnoceny pomocí 1000X zvětšení. Dydimiové filtry mohou zesílit barvu zejména difúzního zbarvení α -NB.

Postup

- Předehřejte roztok fosfátového pufru na teplotu 37 °C.
- Bezprostředně před fixací přidejte 1,5 ml roztoku tablety dusitanu sodného do 1,5 ml roztoku pararosanilinu. Jemně promíchejte překlápěním a nechte odstát nejméně 5 minut, poté přidejte do 40 ml předehřátého roztoku fosfátového pufru.
- Přidejte 5 ml roztoku α -naftyl-butyrátu.
- Dobře promíchejte a nalijte do Coplinovy nádoby. Roztok bude jantarový. Tvorba sraženiny indikuje zhoršení činidla.
- Zafixujte sklíčka po dobu 10 sekund ve fixačním prostředku citrát-aceton-formaldehyd při pokojové teplotě (18–26 °C). Oplachujte v deionizované vodě po dobu 45 sekund. Nedovolte, aby sklíčka vyschla.
- Immediately opláchnutí umístěte sklíčka do roztoku z kroku 4 a inkubujte 1 hodinu při teplotě 37 °C. **Poznámka:** Nejsou-li sklíčka po fixaci umístěna do inkubačního roztoku, musí se nechat vyschnout na vzduchu po dobu nejméně 45 minut.
- Po 1 hodině vyjměte sklíčka z Coplinovy nádoby a oplachujte 2–3 minuty tekoucí vodou z vodovodu. Roztok barviva zlikvidujte.
- Nechte sklíčka uschnout na vzduchu nejméně 15 minut před kontrastním barvením.
- Kontrastně barvěte 5 minut v methylenové modři.
- Propláchněte v deionizované vodě.

Pracovní charakteristiky

Fokální (tečkované) zbarvení pozorované u některých lymfocytů souvisí se zralými T-lymfocyty nesoucími Fc receptory pro IgM. Tato podmožina do určité míry překrývá populaci pomocných T-lymfocytů, ale není přesným měřítkem pomocné funkce. Lymfocyty s difúzním nebo granulárním obarvením nesou receptory pro Fc část IgG a do určité míry se překrývají s populací supresorových T-lymfocytů.

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
1801	Roztok α -naftylbutyrátu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
1804	Roztok pararosanilinu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
1809	Tablety dusitanu sodného	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
915	Roztok citrátu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
1805	Fosfátový pufr	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
1808	Roztok methylenové modři	Místa aktivity	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.



- H226 Hořlavá kapalina a páry.
- H272 Může zesílit oheň; oxidační činidlo.
- H290 Může být korozivní pro kovy.
- H301 Toxický při požití.
- H312 + H332 Zdraví škodlivý při styku s kůží nebo při vdechování.
- H315 Způsobuje podráždění kůže.
- H319 Způsobuje vážné podráždění očí.
- H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest.
- H350 Může způsobit rakovinu.
- H370 Způsobuje poškození orgánů (očí).
- H400 Velmi toxický pro vodní organismy.
- P210 Uchovávejte mimo dosah tepla, horkých povrchů, jisker, otevřeného ohně a jiných zdrojů vznícení. Zákaz kouření.
- P273 Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
- P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P301 + P310 PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte pokožku vodou.
- P304 + P340 + P312 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Pokud se necítíte dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ středisko / lékaře.

Pokud během používání tohoto prostředku nebo v důsledku jeho používání došlo k závažné nežádoucí příhodě, nahlase to výrobci 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

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Přesunutí nápovědy k určení diagnózy do určeného použití. 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. Přidána varování a rizika. Odstraněny odkazy na sadu 181A. 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 CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Bruksanvisning

Lymfocytt α-naftylbutyratesterasesett

Prosedyre nr. 181



Tiltenkt bruk

Lymfocytt α-naftylbutyratesterasesett er ment for bruk som en generell laboratoriehistokjemisk farging for påvisning av α-naftylbutyratesterase i blod, benmargsfilmer og preparater for berøring av vev. Lymfocytt α-naftylbutyratesterasesett er til "in vitro-diagnostisk bruk". Kun for profesjonell bruk. Dataene fra denne manuelle, kvalitative prosedyren tjener bare som hjelpemiddel til diagnostisering av prøver fra mennesker, og bør gjennomgås i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tester eller informasjon.

Reaksjonen oppført nedenfor for α-naftylbutyratesterase vil også vise uspesifikk esteraseaktivitet i monocytter og makrofager. Flere forskjellige metoder er tilgjengelige for dette formålet. Metoden som er oppført nedenfor, er ikke spesifikk for monocytter og makrofager, siden pH-verdien til inkubasjonsmediet er justert for å vise et fokalt (prikket) fargingsmønster i noen lymfocytter. α-naftylbutyratesterasen er mindre følsom enn prosedyren med α-naftylacetatesterase. For prosedyrer som er mer følsomme for monocytter, tilbyr Sigma to esterasesett, katalognr. 90A1 og 91A. Disse settene inkluderer også instruksjoner for demonstrasjon av α-naftylacetatesterase med fluoridhemming.

I henhold til Sigma-Aldrich-teknikker fikseres cytosentrifugepreparater eller -filmer i en sitrat-aceton-formaldehyd-løsning. α-naftylbutyratesterase blir deretter visualisert ved hjelp av følgende samtidige innfangingsprinsipper.

α-naftylbutyratesterase



Reagenser

α-naftylbutyratløsning (kat.nr. 1801-50ML)
α-naftylbutyrat, 2,4 g/l, i metanoløsning med oppløsningsmidler

Pararosanilinsløsning (kat.nr. 1804-15ML)
Pararosanilin, 40 g/l, C.I. 42500, i 2 mol/l saltsyre. Fare. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeirritasjon. Kan forårsake irritasjon av luftveiene. Kan forårsake kreft. Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.

Natriumnitrittabletter (kat.nr. 1809-10TAB)
Natriumnitrit, 250–260 mg per tablett. Fare. Kan forsterke brann; oksiderende. Giftig ved svelging. Gir alvorlig øyeirritasjon. Meget giftig for liv i vann. Holdes/opbevares borte fra klær / brennbare materialer. Unngå utslipp til miljøet. VED SVELGING: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.

Sitratløsning (kat.nr. 915-50ML)
Sitronsyre, 18 mmol/l, natriumsitrat, 9 mmol/l, natriumklorid, 12 mmol/l og overflateaktivt middel. pH skal være 3,6 ± 0,1.

Fosfatbuffer (kat.nr. 1805-1VL)
Natriumfosfat, 59,6 mM, kaliumfosfat, 7,1 mM.

Metylenblått-løsning (kat.nr. 1808-50ML)
Metylenblått, C.I. 52015, 1,4 % (vekt/volum) i 95 % etanol

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyd, 37 %
- Vannbad i stand til å holde 37 °C skjermet fra lys

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar α-naftylbutyratløsning i fryseren under 0 °C. Varm opp løsningene til 37 °C og bland godt før bruk. Kast hvis reagensene blir gule eller hvis det dannes bunnfall.

Oppbevar pararosanilinsløsning, fosfatbuffer, natriumnitrittabletter og metylenblått-løsning i romtemperatur (18–26 °C) beskyttet mot lys.

Oppbevar natriumnitrit-tablettløsning og fosfatbufferløsning i kjøleskap (2–8 °C).

Reagensetiketter har utløpsdato.

Sitratløsningen er egnet for bruk ved fravær av mikrobiell vekst.

Forringelse

Kast α-naftylbutyratløsning hvis reagensene blir lysegule eller hvis det dannes bunnfall.

Kast pararosanilinsløsningen hvis løsningen ikke blir gul ved tilsetning av natriumnitrittablettløsning.

Fosfatbufferløsning skal kasseres hvis den blir uklar.

Fremstilling

Varm opp α-naftylbutyratløsning til 37 °C. Natriumnitrittablettløsning, 4 g/dl fremstilles ved å løse opp 1 tablett i 6,25 ml avionisert vann. Oppbevar denne løsningen tett lukket ved 2–8 °C. Varm opp til romtemperatur før bruk. Kast hvis det oppstår uklarhet.

Fosfatbufferløsning fremstilles ved å løse opp innholdet av fosfatbuffer i 500 ml avionisert vann. Bufferen har en konsentrasjon på 0,067 mol/l, pH 7,7, ved 25 °C. Oppbevares i kjøleskap (2–8 °C). Kast ved tegn på mikrobiell vekst.

Merk

Mikrobiell vekst kan hindres ved å filtrere gjennom en 0,22 mikron filterenhet.

Metylenblått-kontrastfargen fremstilles ved å tilsette 5 ml metylenblått-løsning i 45 ml avionisert vann. Bland godt. Fremstill fersk daglig.

Fikseringsmiddel med sitrat-aceton-formaldehyd: Tilsett 65 ml aceton og 8 ml av 37 % formaldehyd i 25 ml sitratløsning. Plasser i en glassflaske og lukk godt igjen. Oppbevares i kjøleskap (2–8 °C). Varm opp til 18–26 °C før bruk. Stabil ved oppbevaring godt lukket i kjøleskap.

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.

Prøver kan samles inn i enten EDTA eller heparin. Etter fiksering kan objektglass oppbevares i romtemperatur i minst 2 uker. Hvis mononukleære celler skal isoleres ved bruk av HISTOPAQUE®-1077, bør separasjon utføres innen 4 timer, selv om rimelig gjenoppretting er registrert etter 24 timer.²⁵ Blodfilmer, spesielt fra personer med leukopeni, er ikke anbefalt for disse prosedyrene, ettersom evaluering av dette materialet er ganske tidkrevende. Cytosentrifuge eller buffy coat-preparater bør brukes. Benmargsfilmer og vevsberøringsavtrykk utgjør ingen problemer med hensyn til mikroskopisk evaluering.

Merknader

Celler fra friske donorer bør inkluderes i hver test.

Celler isolert på polysukrose-natriumdiatrizoatgradienter kan lagres i flytende nitrogen (LN₂) for kontrollformål. For å oppnå dette fryses 1 x 10⁷–10⁸ celler ved 1 ± 0,3 °C per minutt i et medium som inneholder 50 % føtalt kalveserum, 40 % RPMI-1640 (eller andre egnede vevskulturvæsker) og 10 % dimetysulfoksid (DMSO). De kan lagres enten i væske- eller dampfasen til LN₂.

Objektglass bør evalueres med 1000X forstørrelse. Didymiumfiltre kan forbedre fargen, spesielt for den diffuse fargingen α-NB.

Prosedyre

1. Forvarm fosfatbufferløsning til 37 °C.
2. Umiddelbart før fiksering tilsetter du 1,5 ml natriumnitrittablettløsning i 1,5 ml pararosanilinsløsning. Bland forsiktig ved å snu opp ned og la stå i minst 5 minutter, og tilsett deretter 40 ml forvarmet fosfatbufferløsning.
3. Tilsett 5 ml α-naftylbutyratløsning
4. Bland godt og hell i en Coplin-beholder. Løsningen vil være gul. Dannelse av bunnfall angir reagensforringelse.
5. Fikser objektglass i 10 sekunder i sitrat-aceton-formaldehyd-fikseringsmidlet ved romtemperatur (18–26 °C). Skyll i avionisert vann i 45 sekunder. Objektglassene skal ikke lufttørkes.
6. Umiddelbart etter skylling plasserer du objektglassene i løsningen fra trinn 4 og inkuberer i 1 time ved 37 °C. **Merk:** Hvis objektglassene ikke legges i inkubasjonsløsning etter fiksering, må de lufttørke i minst 45 minutter.
7. Fjern objektglassene fra Coplin-beholderen etter 1 time og skyll i 2–3 minutter i rennende vann fra springen. Kast fargeløsningen.
8. La objektglassene lufttørke minst 15 minutter før kontrastfarging.
9. Kontrastfarg 5 minutter i metylenblått-kontrastfarge.
10. Skyll i avionisert vann.

Ytelsesegenskaper

Det fokale (prikkete) fargingsmønsteret observert i noen lymfocytter er assosiert med modne T-celler som har Fc-reseptorer for IgM. Denne undergruppen overlapper populasjonen med T-hjelperceller til en viss grad, men er ikke et nøyaktig mål på hjelperfunksjonen. De diffuse eller granulære fargingslymfocytene bærer reseptorer til Fc-delen av IgG og overlapper til en viss grad populasjonen med T-suppressorceller.

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
1801	α-naftylbutyrat-løsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1804	Pararosanilin-løsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1809	Natriumnitrit-tabletter	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
915	Sitratløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1805	Fosfatbuffer	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
1808	Metylenblått-løsning	Steder med aktivitet	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.



- H226 Brannfarlig væske og damp.
- H272 Kan forsterke brann; oksiderende.
- H290 Kan være etsende for metaller.
- H301 Giftig ved svelging.
- H312 + H332 Farlig ved hudkontakt eller innånding.
- H315 Irriterer huden.
- H319 Gir alvorlig øyeirritasjon.
- H335 Kan forårsake irritasjon av luftveiene.
- H350 Kan forårsake kreft.
- H370 Forårsaker organskader (øyne).
- H400 Meget giftig for liv i vann.
- P210 Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningsskilder. Røyking forbudt.
- P273 Unngå utslipp til miljøet.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P301 + P310 VED SVELGING: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P312 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege ved ubehag.

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
	Temperaturrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
	Angir autorisert representant i Sveits		

Referanser

- 1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

Kontaktinformasjon

For å legge inn en bestilling, besøk nettstedet vårt på SigmaAldrich.com. Besøk siden for teknisk service på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Flyttet utsagn om diagnostisk hjelpemiddel til tiltenkt bruk. 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. La til advarsler og farer. Fjernet referanser til 181A-sett. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Kullanma Talimatı

Lenfosit α-Naftil Butirat Esteraz Kiti

Prosedür No. 181

IVD

CE

MERCK

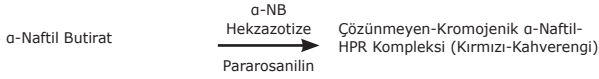
Kullanım Amacı

Lenfosit α-Naftil Butirat Esteraz Kiti, kanda, kemik iliği filmlerinde ve doku dokundurma preparatlarında α-naftil bütirat esterazın tespiti için genel laboratuvar histokimyasal boyası olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Lenfosit α-Naftil Butirat Esteraz Kiti, "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel kalitatif prosedürden elde edilen veriler yalnızca insan numunelerinin tanısına yardımcı olur ve diğer klinik tanısal testleri veya bilgileri ile birlikte gözden geçirilmelidir.

α-Naftil Butirat Esteraz için aşağıda listelenen reaksiyon ayrıca monositlerde ve makrofajlarda spesifik olmayan esteraz aktivitesi gösterecektir. Bu amaçla birkaç farklı yöntem mevcuttur. Kuluçka ortamının pH'ı, bazı lenfositlerde bir fokal (nokta) boyama paterni gösterecek şekilde ayarlandığından aşağıda listelenen yöntem monositler ve makrofajlar için spesifik değildir. α-Naftil Butirat Esteraz, α-Naftil Butirat Esteraz prosedüründen daha az duyarlıdır. Monositlere karşı daha duyarlı prosedürler için Sigma, Katalog No. 90A1 ve 91A şeklinde iki Esteraz kiti sunar. Bu kitler ayrıca florür inhibitörünü ile α-naftil asetat esterazın gösterilmesi için talimatlar içerir.

Sigma-Aldrich tekniklerine göre sitosantrifüj preparasyonları veya filmler bir sitrat-aseton-formaldehit çözeltisinde sabitlenir. A-naftil butirat esteraz daha sonra aşağıdaki eşzamanlı yakalama ilkeleriyle görselleştirilir.

α-Naftil Butirat Esteraz



Reaktifler

α-Naftil Butirat Çözeltisi (Kat. No. 1801-50ML)

α-Naftil Butirat, 2,4 g/L, çözücülerle birlikte metanol çözeltisi içinde.

Pararosanilin Çözeltisi (Kat. No. 1804-15ML)

Pararosanilin, 40 g/L, CI 42500, 2 mol/L hidroklorik asit içinde. Tehlike. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Solunum tahrişine neden olabilir. Kanserle neden olabilir. Tozunu/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının.

Sodyum Nitrit Tabletleri (Kat. No. 1809-10TAB)

Sodyum nitrit, tablet başına 250-260 mg. Tehlike. Yangını güçlendirebilir; oksitleyici. Yutulması halinde zehirlidir. Ciddi göz tahrişine neden olur. Sudaki yaşam için çok toksiktir. Kıyafetlerden/yanıcı malmelerden uzak tutun/uzakta saklayın. Çevreye salınmasını önleyin. YUTULMASI HALİNDE: Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın.

Sitrat Çözeltisi (Kat. No.915-50ML)

Sitrik asit, 18 mmol/L, sodyum sitrat, 9 mmol/L, sodyum klorür, 12 mmol/L ve sürfaktan. pH, 3,6 ± 0,1 olmalıdır.

Fosfat Tamponu (Kat. No. 1805-1VL)

Sodyum fosfat, 59,6 mM, potasyum fosfat, 7,1 mM.

Metilen Mavi Çözeltisi (Kat. No. 1808-50ML)

Metilen mavi, C.I. 52015, %95 etanol içinde %1,4 (a/h).

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Aseton, ACS Reaktifi
- Formaldehit, %37
- 37°C'yi ışıktan korunurken muhafaza edebilen su banyosu

Saklama ve Stabilité

α-Naftil Butirat Çözeltisini, 0°C'nin altında dondurucuda saklayın. Çözeltiyi 37°C'ye ısıtın ve kullanmadan önce iyice karıştırın. Reaktifler sarıya dönerse veya çökelti oluşursa atın.

Pararosanilin Çözeltisi, Fosfat Tamponu, Sodyum Nitrit Tabletleri ve Metilen Mavi Çözeltisini oda sıcaklığında (18–26°C) ışıktan koruyarak saklayın.

Sodyum Nitrit Tablet Çözeltisini ve Fosfat Tampon Çözeltisini buzdolabında (2–8°C) saklayın.

Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur.

Sitrat çözeltisi, görünür mikrobiyal büyümenin olmadığı durumlarda kullanıma uygundur.

Bozulma

Reaktifler parlak sarıya dönerse veya çökelti oluşursa α-Naftil Butirat Çözeltisini atın.

Sodyum Nitrit Tablet Çözeltisi eklendiğinde çözelti kehribar rengine dönmüyorsa Pararosanilin Çözeltisini atın.

Bulanıklık oluşursa Fosfat Tampon Çözeltisi atılmalıdır.

Hazırlama

α-Naftil Butirat Çözeltisini 37°C'ye ısıtın. Sodyum Nitrit Tablet Çözeltisi 4 g/dL, 1 tablet 6,25 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanır. Bu çözeltiyi ağız sıkıca kapalı olarak 2–8°C'de saklayın. Kullanmadan önce oda sıcaklığına getirin. Bulanıklık olursa atın.

Fosfat Tampon Çözeltisi, Fosfat Tampon içeriği 500 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanır. Tampon, 25°C'de 0,067 mol/L, pH 7,7 konsantrasyonuna sahiptir. Buzdolabında saklayın (2–8°C). Mikrobiyal üreme belirginse atın.

Not

0,22 mikron Filtre Ünitesinden süzme yoluyla mikrobiyal büyüme geciktirilebilir.

Metilen Mavi Zıt Boyası, 45 mL deiyonize suya 5 mL Metilen Mavi Çözeltisi eklenerek hazırlanır. İyice karıştırın. Günlük yeni çözelti hazırlayın.

Sitrat-Aseton-Formaldehit Fiksafı: 25 mL Sitrat Çözeltisine 65 mL Aseton ve 8 mL %37 Formaldehit ekleyin. Cam şişeye koyun ve ağız sıkıca kapatın. Buzdolabında saklayın (2–8°C). Kullanmadan önce 18–26°C'ye ısıtın. Ağız sıkıca kapalı olarak buzdolabında saklanırsa stabildir.

Önlemler

Bu kitle bulunan 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 ekipmanlarını 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.

Numuneler EDTA veya heparin içinde toplanabilir. Fiksasyondan sonra lamalar oda sıcaklığında en az 2 hafta saklanabilir. HISTOPAQUE®-1077 kullanılarak mononükleer hücreler izole edilecekse, ayırma 4 saat içinde yapılmalıdır, bununla birlikte 24 saat sonra orta düzeyde iyileşme kaydedilmiştir.¹ Özellikle lökopenik bireylerden alınan kan filmleri, bu malzemenin değerlendirilmesi oldukça zaman aldığından bu prosedürler için önerilmez. Sitosantrifüj veya buffy coat preparatları kullanılmalıdır. Kemik iliği filmleri ve doku dokundurma preparatları, mikroskobik değerlendirme açısından sorun oluşturmaz.

Notlar

Sağlıklı donörlerden alınan hücreler her teste dahil edilmelidir.

Polisükröz-sodyum diatrizoat gradyanlarında izole edilen hücreler, kontrol amacıyla sıvı nitrojen içinde (LN₂) saklanabilir. Bunu gerçekleştirmek için, 1 x 10⁷ – 10⁸ hücre, %50 fetal dana serumu, %40 RPMI-1640 (veya diğer uygun doku kültürü sıvıları) ve %10 dimetilsülfoksit (DMSO) içeren bir ortamda dakikada 1 ± 0,3°C'de dondurulur. LN₂'nin sıvı veya buhar fazında depolanabilir.

Lamlar 1000X büyütme kullanılarak değerlendirilmelidir. Didimyum filtreler, özellikle diffüz boyama yapan α-NB'nin rengini iyileştirebilir.

Prosedür

- Fosfat Tampon Çözeltisini 37°C'ye önceden ısıtın.
- Fiksasyondan hemen önce 1,5 mL Sodyum Nitrit Tablet Çözeltisini 1,5 mL Pararosanilin Çözeltisine ekleyin. Yavaşça ters yönde karıştırın ve en az 5 dakika bekletin, ardından 40 mL önceden ısıtılmış Fosfat Tampon ekleyin.
- 5 mL α-Naftil Butirat Çözeltisi ekleyin.
- İyice karıştırın ve Coplin kavanozuna dökün. Çözelti kehribar rengine olacaktır. Çökelti oluşumu reaktif bozulmasını işaret eder.
- Lamlara oda sıcaklığında (18–26°C) Sitrat-Aseton-Formaldehit Fiksafı içinde 10 saniye fiksasyon uygulayın. Deiyonize suda 45 saniye durulayın. Lamların kurumasına izin vermeyin.
- Durulamadan hemen sonra, lamları Adım 4'teki çözeltiyi yerleştirin ve 37°C'de 1 saat inkübe edin. **Not:** Lamlar fiksasyondan sonra inkübasyon çözeltisine yerleştirilmezse, en az 45 dakika kurumaya bırakılmalıdır.
- 1 saat sonra Coplin kavanozundan lamları çıkarın ve akan musluk suyunda en az 2–3 dakika durulayın. Boyama çözeltisini atın.
- Lamları zıt boyamadan önce en az 15 dakika kurumaya bırakın.
- Metilen Mavi Zıt Boyası içinde 5 dakika zıt boyama yapın.
- Deiyonize suda durulayın.

Performans Özellikleri

Bazı lenfositlerde gözlemlenen fokal (nokta) boyama paterni, IgM için Fc reseptörleri taşıyan olgun T hücreleri ile ilişkilidir. Bu alt küme, T yardımcı hücre popülasyonuyla bir dereceye kadar örtüşür ancak yardımcı işlev için isabetli bir ölçü modeli değildir. Yaygın veya granüler boyanan lenfositler, IgG'nin Fc kısmında reseptörler taşır ve bir dereceye kadar T baskılayıcı hücre popülasyonuyla örtüşür.

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	Tahsil İçi Özgüllük	Tahsil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
1801	α-Naftil Butirat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
1804	Pararosanilin Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
1809	Sodyum Nitrit Tabletleri	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
915	Sitrat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
1805	Fosfat Tamponu	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
1808	Metilen Mavi Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	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.



H226 Alevlenir sıvı ve buhar.

H272 Yangını güçlendirebilir; oksitleyici.

H290 Metaller için aşındırıcı olabilir.

H301 Yutulması halinde zehirlidir.

H312 + H332 Cilt ile teması veya solunması halinde zararlıdır.

H315 Cilt tahrişine neden olur.

H319 Ciddi göz tahrişine neden olur.

H335 Solunum tahrişine neden olabilir.

H350 Kansere neden olabilir.

H370 Organlarda (gözlerde) hasara yol açabilir.

H400 Sudaki yaşam için çok toksiktir.

P210 Isıdan, sıcak yüzeylerden, kıvılcımlardan, açık alevlerden ve diğer tutuşturma kaynaklarından uzak tutun. Sigara içmeyin.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

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

P301 + P310 YUTULMASI HALİNDE: Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

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

P304 + P340 + P312 SOLUNMASI HALİNDE: Kişiyi temiz havaya çıkarın ve rahatça nefes alabileceği bir durumda tutun. Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

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 Belirler		

Referanslar

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Taniya yardımcı ifadesi, kullanım amacı bölümüne aktarıldı. 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. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. 181A kitime yapılan referanslar çıkarıldı. 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
Laurenzenvorstadt 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Käyttöohje

α-naftyylibutyraattiesteraasi-pakkaus lymfosyyteille

Menetelmänro 181



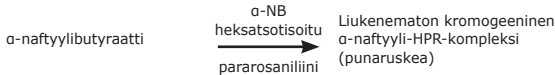
Käyttötarkoitus

α-naftyylibutyraattiesteraasipakkaus lymfosyyteille on tarkoitettu käytettäväksi histokemiallisena väriaineena yleisessä laboratoriokäytössä α-naftyylibutyraattiesteraasin havaitsemiseksi veren tai luuytimen sivelyvalmisteista ja kudосosketusvalmisteista. α-naftyylibutyraattiesteraasipakkaus lymfosyyteille on tarkoitettu ”in vitro -diagnostiikkaan”. Vain ammattilaisten käyttöön. Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä saatuja tietoja voi käyttää vain apuna ihmisperäisten näytteiden diagnosoinnissa, ja niitä on tarkasteltava yhdessä muiden kliinisten diagnostiikkatestien tai tietojen kanssa.

Jäljempänä kuvattu α-naftyylibutyraattiesteraasin reaktio osoittaa myös epäspesifistä esteraasitoimintaa monosyyteissä ja makrofageissa. Tähän tarkoitukseen on käytettävissä useita eri menetelmiä. Jäljempänä kuvattu menetelmä ei ole spesifinen monosyyteille ja makrofageille, sillä inkubointiväliaineiden pH on säädetty osoittamaan fokaalinen (pistemäinen) värjäyskuvio joissakin lymfosyyteissä. α-naftyylibutyraattiesteraasi ei ole yhtä herkkä kuin α-naftyyliasetaatitieraasia hyödyntävä menetelmä. Monosyyteille herkempiä menetelmiä varten Sigma tarjoaa kaksi esteraasipakkausta, luettelonumerot 90A1 ja 91A. Nämä pakkaukset sisältävät myös ohjeet α-naftyyliasetaatitieraasin osoittamiseen fluoridi-inhibiittilä.

Sigma-Aldrichin tekniikoiden mukaan sytosentrifugivalmisteet tai sivelyvalmisteet kiinnitetään sitraatti-asetoni-formaldehydiliuokseen. Sen jälkeen α-naftyylibutyraattiesteraasi visualisoidaan seuraavilla samanaikaisen sieppauksen periaatteilla.

α-naftyylibutyraattiesteraasi



Reagenssit

α-naftyylibutyraattiliuos (luettelonro 1801-50ML)
α-naftyylibutyraatti, 2,4 g/l, liuotinaineita sisältävässä metanoliliuoksessa

Pararosaniliiniliuos (luettelonro 1804-15ML)
Pararosaniliini, 40 g/l, väri-indeksi 42500, suolahapossa, jonka pitoisuus on 2 mol/l. Vaara. Ärsyttää ihoa. Ärsyttää voimakkaasti silmiä. Saattaa aiheuttaa hengitysteiden ärsytystä. Saattaa aiheuttaa syöpää. Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä.

Natriumnitriittitabletit (luettelonro 1809-10TAB)
Natriumnitriitti, 250–260 mg/tabletti. Vaara. Voi edistää tulipaloa; hapettava. Myrkyllistä nieltynä. Ärsyttää voimakkaasti silmiä. Erittäin myrkyllistä vesiliöille. Pidä/varastoi erillään vaatekuksesta/syntyvistä materiaaleista. Vältettävä päästämistä ympäristöön. JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin.

Sitraattiliuos (luettelonro 915-50ML)
Sitraunahappo, 18 mmol/l, natriumsitraatti, 9 mmol/l, natriumkloridi, 12 mmol/l, ja pinta-aktiivinen aine. pH:n tulisi olla 3,6 ±0,1.

Fosfaattipuskuri (luettelonro 1805-1VL)
Natriumfosfaatti, 59,6 mM, kaliumfosfaatti, 7,1 mM.

Metyleenisiniliuos (luettelonro 1808-50ML)
Metyleenisini, väri-indeksi 52015, 1,4 % (w/v) 95-prosenttisessä etanolissa

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Asetoni, ACS-reagenssi
- Formaldehydi, 37 %
- Vesihaude, joka kykenee ylläpitämään 37 °C:n lämpötilan valolta suojattuna

Säilytys ja stabiilius

Säilytä α-naftyylibutyraattiliuos pakastettuna alle 0 °C:ssa. Lämmitä liuos 37 °C:n lämpötilaan ja sekoita hyvin ennen käyttöä. Hävitä reagenssit, jos ne muuttuvat keltaisiksi tai saostuvat.

Säilytä pararosaniliiniliuos, fosfaattipuskuri, natriumnitriittitabletit ja metyleenisiniliuos huoneenlämmössä (18–26 °C) valolta suojattuina.

Säilytä natriumnitriittitablettiliuos ja fosfaattipuskuriliuos jääkaapissa (2–8 °C).

Viimeinen käyttöpäivä on merkitty reagenssien etiketteihin.

Sitraattiliuos soveltuu käytettäväksi, kun mikrobikasvua ei ole.

Pilaantuminen

Hävitä α-naftyylibutyraattiliuos, jos reagenssi muuttuu kirkaankeltaiseksi tai saostuu.

Hävitä pararosaniliiniliuos, jos liuos ei muutu kellanruskeaksi natriumnitriittitablettiliuosta lisättäessä.

Fosfaattipuskuriliuos on hävitettävä, jos se samenee.

Valmistelu

Lämmitä α-naftyylibutyraattiliuos 37 °C:n lämpötilaan. Natriumnitriittitablettiliuos, 4 g/dl, valmistetaan liuottamalla yksi tabletti 6,25 ml:aan deionisoitua vettä. Säilytä liuos tiiviisti suljettuna 2–8 °C:ssa. Lämmitä huoneenlämpöiseksi ennen käyttöä. Hävitä liuos, jos se samenee.

Fosfaattipuskuriliuos valmistetaan liuottamalla fosfaattipuskurin sisältö 500 ml:aan deionisoitua vettä. Puskurin pitoisuus on 0,067 mol/l ja pH 7,7 lämpötilan ollessa 25 °C. Säilytä jääkaapissa (2–8 °C). Hävitä, jos mikrobikasvua on havaittavissa.

Huomautus

Mikrobikasvua voidaan hidastaa suodattamalla 0,22 mikrometrin suodatinyksikön läpi.

Metyleenisinivastaväri valmistetaan lisäämällä 5 ml metyleenisiniliuosta 45 ml:aan deionisoitua vettä. Sekoita hyvin. Valmista tuore liuos päivittäin.

Sitraatti-asetoni-formaldehydifiksatiivi: Lisää 25 ml:aan sitraattiliuosta 65 ml asetonia ja 8 ml 37-prosenttista formaldehydiä. Laita lasipulloon ja sulje se tiiviisti. Säilytä jääkaapissa (2–8 °C). Lämmitä 18–26 °C:n lämpötilaan ennen käyttöä. Liuos on stabiili, jos sitä säilytetään tiiviisti suljettuna jääkaapissa.

Varoitoimet

Tämän pakkauksen in vitro -diagnostiset (IVD) laitteet on tarkoitettu käytettäväksi in vitro -diagnostiikassa kliinisessä laboratorioympäristössä. 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 mikroskooppilla.

Normaaleja laboratorioreagenssien käsittelyyn liittyviä varoituksia 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.

Näytteet voidaan kerätä joko EDTA:han tai hepariiniin. Kiinnityksen jälkeen objektilaseja voidaan säilyttää huoneenlämmössä ainakin kaksi viikkoa. Jos yksitumaiset solut eristetään HISTOPAQUE®-1077-aineella, erottaminen on suoritettava neljän tunnin kuluessa, vaikka kohtuullista talteenottoa on havaittu myös 24 tunnin kuluttua.¹ Veren sivelyvalmisteita, erityisesti leukopenisiltä henkilöiltä, ei suositella näihin menetelmiin, sillä kyseisen materiaalin arviointi on melko aikaa vievää. Käytettävien valmisteluiden tulee olla sytosentrifugi- tai buffy coat -valmisteita. Luuytimen sivelyvalmisteet ja kudосosketusvalmisteet eivät aiheuta ongelmia mikroskooppisessa arvioinnissa.

Huomautukset

Jokaiseen testiin tulee sisällyttää terveiden luovuttajien soluja.

Polysakkaroosi-natrium-diatritsoaattigradientteihin eristetyt solut voidaan varastoida nestemäiseen tyypeen (LN₂) valvontaa varten. Tätä varten 1 x 10⁷–10⁸ solua jäädytetään tahdilla 1 ±0,3 °C minuutissa väliaineessa, josta 50 % on nautan sikion seerumia, 40 % RPMI-1640-ainetta (tai muuta sopivaa kudосviljelynestettä) ja 10 % dimetyylisulfoksidia (DMSO). Varastointi voidaan suorittaa joko LN₂:n neste- tai kaasufaasissa.

Objektilasit on arvioitava 1000-kertaisella suurennuksella. Didymysuodattimet voivat parantaa erityisesti α-NB:n diffuusin värjäyksen väriä.

Menettely

- Esilämmitä fosfaattipuskuriliuos 37 °C:n lämpötilaan.
- Lisää juuri ennen kiinnitystä 1,5 ml natriumnitriittitablettiliuosta 1,5 ml:aan pararosaniliiniliuosta. Sekoita varovasti kääntelemällä ja anna asettua vähintään viiden minuutin ajan. Lisää sitten 40 ml:aan esilämmitettyä fosfaattipuskuriliuosta.
- Lisää 5 ml α-naftyylibutyraattiliuosta.
- Sekoita hyvin ja kaada Coplin-astiaan. Liuos muuttuu kellanruskeaksi. Sakan muodostuminen viittaa reagenssin pilaantumiseen.
- Kiinnitä objektilaseja 10 sekuntia sitraatti-asetoni-formaldehydifiksatiivissa huoneenlämmössä (18–26 °C). Huuhtele deionisoidussa vedessä 45 sekunnin ajan. Älä päästä objektilaseja kuivumaan.
- Aseta objektilasit välittömästi huuhtelun jälkeen vaiheessa 4 valmistettuun liuokseen ja inkuboi yksi tunti 37 °C:ssa. **Huomautus:** Jos objektilaseja ei aseteta inkubointiliuokseen kiinnityksen jälkeen, niiden on annettava kuivua vähintään 45 minuuttia.
- Ota objektilasit yhden tunnin kuluttua Coplin-astiasta ja huuhtelee 2–3 minuuttia juoksevalla vesijohtovedellä. Hävitä värjäysliuos.
- Anna objektilasien kuivua vähintään 15 minuuttia ennen vastavärjäystä.
- Vastavärjää viiden minuutin ajan metyylininivastavärisä.
- Huuhtelee deionisoidussa vedessä.

Suorituskykyominaisuudet

Joissakin lymfosyyteissä havaittu fokaalinen (pistemäinen) värjäyskuvio liittyy kypsiin T-soluihin, jotka sisältävät IgM:n Fc-reseptoreita. Tämä osajoukko on jossain määrin päällekkäinen auttaja-T-solupopulaation kanssa, mutta se ei ole tarkka auttajatoiminnan mitta. Diffuusisti tai granulaarisesti värjättyissä lymfosyyteissä on reseptoreita IgG:n Fc-osassa, ja ne ovat jossain määrin päällekkäisiä säätelijä-T-solupopulaation kanssa.

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

Analyyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittelyn sisäisen spesifisyys	Määrittelyn sisäinen herkkyys	Määrittelyn välinen spesifisyys	Määrittelyn välinen herkkyys
1801	α-naftyyli-butyraattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
1804	Pararosaniliiniliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
1809	Natriumnitriitti-tabletit	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
915	Sitraattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
1805	Fosfaattipuskuri	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
1808	Metyleenisiniiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

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



- H226 Syttyvä neste ja höyry.
- H272 Voi edistää tulipaloa; hapettava.
- H290 Voi syövyttää metalleja.
- H301 Myrkyllistä nieltynä.
- H312 + H332 Haitallista joutuessaan iholle tai hengitettynä.
- H315 Ärsyttää ihoa.
- H319 Ärsyttää voimakkaasti silmiä.
- H335 Saattaa aiheuttaa hengitysteiden ärsytystä.
- H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.
- H370 Vahingoittaa elimiä (silmät).
- H400 Erittäin myrkyllistä vesieliöille.
- P210 Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.
- P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.
- P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.
- P301 + P310 JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.
- P303 + P361 + P353 JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo iho vedellä.
- P304 + P340 + P312 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.

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		Vaatimustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Valtuutettu edustaja Sveitsissä		

Lähteet

1. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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 3.0	2014
Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2023

Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisätty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Lauselmia diagnosointiavusta siirretty käyttötarkoituksen alle. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiota poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat. Poistettu viittaukset 181A-pakkaukseen. 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.

Sigma-Aldrich®

Gebruiksaanwijzing

Lymfocyt α -naftylbutyraat-esterase-kit

Procedurenr. 181

MERCK

IVD

CE

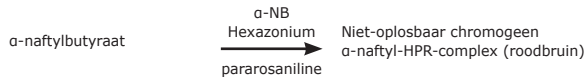
Beoogd gebruik

De lymfocyt α -naftylbutyraat-esterase-kit is bedoeld voor gebruik als een algemene histochemische laboratoriumkleuring voor de detectie van α -naftylbutyraat-esterase in bloed, beenmergfilms en 'tissue touch'-preparaten. De lymfocyt α -naftylbutyraat-esterase-kit is bedoeld voor 'in-vitrodiagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. De gegevens die worden verkregen met deze handmatige, kwalitatieve procedure dienen alleen als hulpmiddel bij het diagnosticeren van humane monsters en moeten worden beoordeeld in combinatie met andere klinische diagnostische tests of informatie.

De hieronder genoemde reactie voor α -naftylbutyraat-esterase zal ook niet-specifieke esteraseactiviteit in monocyt en macrofagen aantonen. Voor dit doeleinde zijn verschillende methoden beschikbaar. De onderstaande methode is niet specifiek voor monocyt en macrofagen, omdat de pH van het incubatiemedium is aangepast om een focaal (punt)vlekkenpatroon in sommige lymfocyten aan te tonen. De α -naftylbutyraat-esterase-procedure is minder gevoelig dan de α -naftylacetaat-esterase-procedure. Voor procedures die gevoeliger zijn voor monocyt en macrofagen biedt Sigma twee Esterase-kits, catalogusnummers 90A1 en 91A. Deze kits bevatten ook instructies voor het aantonen van α -naftylacetaat-esterase met fluorideremming.

Volgens de technieken van Sigma-Aldrich worden cytocentrifugepreparaten of -films gefixeerd in een citraat-aceton-formaldehydeoplossing. α -naftylbutyraat-esterase wordt vervolgens gevisualiseerd door de volgende principes voor simultane vastlegging.

α -naftylbutyraat-esterase



Reagentia

α -naftylbutyraatoplossing (cat. nr. 1801-50ML)

α -naftylbutyraat, 2,4 g/L, in methanoloplossing met oplosmiddelen

Pararosaniline-oplossing (cat. nr. 1804-15ML)

Pararosaniline, 40 g/L, C.I. 42500, in 2 mol/L zoutzuur. Gevaar. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Kan irritatie van de luchtwegen veroorzaken. Kan kanker veroorzaken. Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/sputnevel vermijden.

Natriumnitriet-tabletten (cat. nr. 1809-10TAB)

Natriumnitriet, 250-260 mg per tablet. Gevaar. Kan brand bevorderen; oxiderend. Giftig bij inslikken. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Zeer giftig voor in het water levende organismen. Van kleding/brandbare materialen verwijderd houden/bewaren. Voorkom lozing in het milieu. NA INSLIKKEN: Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.

Citraatoplossing (cat. nr. 915-50ML)

Citroenzuur, 18 mmol/L, natriumcitraat, 9 mmol/L, natriumchloride, 12 mmol/L, en oppervlakteactieve stof. De pH moet $3,6 \pm 0,1$ zijn.

Fosfaatbuffer (cat. nr. 1805-1VL)

Natriumfosfaat, 59,6 mM, kaliumfosfaat, 7,1 mM.

Methyleenblauwoplossing (cat. nr. 1808-50ML)

Methyleenblauw, C.I. 52015, 1,4% (w/w) in 95% ethanol

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyde, 37%
- Waterbad dat 37 °C kan handhaven, afgeschermd van licht

Opslag en stabiliteit

Bewaar α -naftylbutyraatoplossing in de vriezer onder 0 °C. Verwarm de oplossing tot 37 °C en meng goed vóór gebruik. Gooi weg als de reagentia geel worden of als er een neerslag ontstaat.

Bewaar pararosaniline-oplossing, fosfaatbuffer, natriumnitriet-tabletten en methyleenblauwoplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C), afgeschermd van licht.

Bewaar de natriumnitriet-tabletoplossing en de fosfaatbufferoplossing gekoeld (2-8 °C).

Op de etiketten van de reagentia staat de vervaldatum.

Citraatoplossing is geschikt voor gebruik in afwezigheid van microbiële groei.

Verslechtering

Gooi α -naftylbutyraatoplossing weg als het reagens heldergeel wordt of als er een neerslag ontstaat.

Gooi pararosaniline-oplossing weg als de oplossing niet amberkleurig wordt na toevoeging van natriumnitriet-tabletoplossing.

De fosfaatbufferoplossing moet worden weggegooid als er troebelheid ontstaat.

Vorbereiding

Verwarm α -naftylbutyraatoplossing tot 37 °C. Natriumnitriet-tabletoplossing, 4 g/dL wordt bereid door 1 tablet op te lossen in 6,25 mL gede-ioniseerd water. Bewaar deze oplossing goed afgesloten bij 2-8 °C. Vóór gebruik opwarmen tot kamertemperatuur. Gooi weg als er troebelheid ontstaat.

De fosfaatbufferoplossing wordt bereid door de inhoud van fosfaatbuffer op te lossen in 500 mL gede-ioniseerd water. De buffer heeft een concentratie van 0,067 mol/L, pH 7,7 bij 25 °C. Bewaar in de koelkast (2-8 °C). Gooi weg als er sprake is van microbiële groei.

Opmerking

Microbiële groei kan worden vertraagd door filtratie door een filtereenheid van 0,22 micron.

Methyleenblauw-tegenkleuring wordt bereid door 5 mL methyleenblauwoplossing toe te voegen aan 45 mL gede-ioniseerd water. Goed mengen. Dagelijks vers bereiden.

Citraat-aceton-formaldehyde-fixatief: Voeg aan 25 mL citraatoplossing 65 mL aceton en 8 mL 37%-formaldehyde toe. Doe dit in een glazen fles en sluit goed af. Bewaar in de koelkast (2-8 °C). Vóór gebruik opwarmen tot 18-26 °C. Stabiël indien goed afgesloten bewaard in de koelkast.

Voorzorgsmaatregelen

De IVD's in deze kit zijn bedoeld voor in-vitrodiagnostisch 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. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Procedure

Monsterafname

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

Monsters kunnen worden afgenomen in EDTA of heparine. Na fixatie kunnen de objectglasjes ten minste 2 weken bij kamertemperatuur worden bewaard. Als mononucleaire cellen moeten worden geïsoleerd met HISTOPAQUE®-1077, moet de scheiding binnen 4 uur worden uitgevoerd, hoewel na 24 uur een redelijk herstel is waargenomen.¹ Bloedfilms, met name van leukopenische personen, worden niet aanbevolen voor deze procedures omdat de evaluatie van dit materiaal veel tijd kost. Er moeten cytocentrifuge- of buffy coat-preparaten worden gebruikt. Beenmergfilms en 'tissue touch'-preparaten leveren geen problemen op met betrekking tot microscopische evaluatie.

Opmerkingen

Bij elke test moeten ook cellen van gezonde donoren worden meegenomen.

Cellen die zijn geïsoleerd op polysucrose-natriumdiazotizaatgradiënten kunnen voor controledoelende worden opgeslagen in vloeibare stikstof (LN₂). Om dit te bereiken worden $1 \times 10^7 - 10^8$ cellen bevroren bij $1 \pm 0,3$ °C per minuut in een medium dat 50% foetaal kalfserum, 40% RPMI-1640 (of andere geschikte weefselweekvloeistoffen) en 10% dimethylsulfoxide (DMSO) bevat. Ze kunnen worden opgeslagen in de vloeistof- of dampfase van LN₂.

De objectglasjes moeten worden beoordeeld met een vergroting van 1000X. Didymiumfilters kunnen de kleur van met name de diffuse kleuring α -NB versterken.

Procedure

1. Verwarm de fosfaatbufferoplossing voor tot 37 °C.
2. Voeg onmiddellijk vóór de fixatie 1,5 mL natriumnitriet-tabletoplossing toe aan 1,5 mL pararosaniline-oplossing. Meng voorzichtig door omkering en laat minstens 5 minuten staan, voeg dan toe aan 40 mL voorverwarmde fosfaatbufferoplossing.
3. Voeg 5 mL α -naftylbutyraatoplossing toe.
4. Meng goed en giet in een Coplin-pot. De oplossing zal amberkleurig zijn. Neerslagvorming duidt op verslechtering van het reagens.
5. Fixeer de objectglasjes 10 seconden in citraat-aceton-formaldehyde-fixatief bij kamertemperatuur (18-26 °C). Spoel 45 seconden in gede-ioniseerd water. Laat de objectglasjes niet drogen.
6. Plaats de objectglasjes onmiddellijk na het spoelen in de oplossing van stap 4 en incubeer 1 uur bij 37 °C. **Opmerking:** Als de objectglasjes na fixatie niet in de incubatievloeistof worden geplaatst, moeten ze ten minste 45 minuten aan de lucht drogen.
7. Haal de objectglasjes na 1 uur uit de Coplin-pot en spoel ze 2-3 minuten af onder stromend kraanwater. Gooi de kleuroplossing weg.
8. Laat de objectglasjes ten minste 15 minuten aan de lucht drogen alvorens ze van een tegenkleuring te voorzien.
9. Pas de tegenkleuring toe gedurende 5 minuten in methyleenblauw.
10. Spoel in gede-ioniseerd water.

Prestatiekenmerken

Het focale (punt)vlekkenpatroon dat in sommige lymfocyten wordt waargenomen, wordt geassocieerd met rijpe T-cellen die Fc-receptoren voor IgM dragen. Deze subset overlapt de T-helperpopulatie tot op zekere hoogte, maar is geen nauwkeurige maatstaf voor de helperfunctie. De diffusie of korrelig gekleurde lymfocyten dragen receptoren voor het Fc-deel van IgG en overlappen tot op zekere hoogte de T-suppressorcelpopulatie.

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, bevestigden 100% gevoeligheid, specificiteit en herhaalbaarheid.

Cat. nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
1801	α-naftylbutyraatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
1804	Pararosaniline-oplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
1809	Natriumnitriet-tabletten	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
915	Citraatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
1805	Fosfaatbuffer	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
1808	Methyleen-blauwoplossing	Locaties van activiteit	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.



H226 Ontvlambare vloeistof en damp.

H272 Kan brand bevorderen; oxiderend.

H290 Kan bijtend zijn voor metalen.

H301 Giftig bij inslikken.

H312 + H332 Schadelijk bij contact met de huid of bij inademing.

H315 Veroorzaakt huidirritatie.

H319 Veroorzaakt ernstige oogirritatie.

H335 Kan irritatie van de luchtwegen veroorzaken.

H350 Kan kanker veroorzaken.

H370 Veroorzaakt schade aan organen (ogen).

H400 Zeer giftig voor in het water levende organismen.

P210 Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Verboden te roken.

P273 Voorkom lozing in het milieu.

P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

P301 + P310 NA INSLIKKEN: Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.

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 + P312 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel een ANTIGIFCENTRUM/arts als u zich onwel voelt.

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. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

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. 3.0	2014
Herz. 4.0	2016
Herz. 5.0	2023

Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Hulp bij diagnosticering verplaatst naar beoogd gebruik. 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. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. Verwijzingen naar 181A-kit verwijderd. 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

De Initial M en Sigma-Aldrich zijn handelsmerken van Merck KGaA, Darmstadt, Duitsland of gelieerde ondernemingen. Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectieve eigenaars. Gedetailleerde informatie over handelsmerken is beschikbaar via openbaar toegankelijke bronnen.

Navodila za uporabo

Komplet za limfocitno α -naftilbutirat esterazo

Postopek št. 181



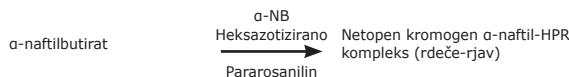
Predvidena uporaba

Komplet za limfocitno α -naftilbutirat esterazo je namenjen uporabi kot splošno laboratorijsko histokemično barvilo za odkrivanje α -naftilbutirat esteraze v krvi, filmih kostnega mozga in tipalnih tkivnih preparatih. Komplet za limfocitno α -naftilbutirat esterazo je namenjen za »diagnostično uporabo in vitro«. Samo za strokovno uporabo. Podatki, pridobljeni s tem ročnim, kvalitativnim postopkom, služijo le kot pomoč pri diagnosticiranju človeških vzorcev in jih je treba pregledati v povezavi z drugimi kliničnimi diagnostičnimi testi ali informacijami.

Spodaj navedena reakcija za α -naftilbutirat esterazo bo pokazala tudi nespecifično esterazno aktivnost v monocitih in makrofagih. V ta namen je na voljo več različnih metod. Spodaj navedena metoda ni specifična za monocite in makrofage, saj je bila vrednost pH inkubacijskega medija prilagojena tako, da se pri nekaterih limfocitih pokaže vzorec žariščnega (točkovnega) barvanja. Postopek z α -naftilbutirat esterazo je manj občutljiv kot postopek z α -naftilacetat esterazo. Za postopke, ki so občutljivejši na monocite, Sigma ponuja dva kompleta esteraz, kat. št. 90A1 in 91A. Ta kompleta vključujeta tudi navodila za dokazovanje α -naftilacetat esteraze z inhibicijo s fluoridom.

V skladu s tehnikami podjetja Sigma-Aldrich se citocentrifugalni preparati ali filmi fiksirajo v raztopini citrata, acetonu in formaldehida. α -naftilbutirat esteraza je nato ponazorjena z naslednjimi načeli hkratnega zajemanja.

α -naftilbutirat esteraza



Reagenti

Raztopina α -naftilbutirata (kat. št. 1801-50ML)

α -naftilbutirat, 2,4 g/l, v raztopini metanola s solubilizatorji

Raztopina pararosanilina (kat. št. 1804-15ML)

Pararosanilin, 40 g/l, C.I. 42500, v 2 mol/l klorovodikove kisline. Nevarno. Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči. Lahko povzroči draženje dihal. Lahko povzroči raka. Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila.

Tablete natrijevega nitrita (kat. št. 1809-10TAB)

Natrijev nitrit, 250–260 mg na tableto. Nevarno. Lahko okrepi požar; oksidativna snov. Strupeno pri zaužitju. Povzroča hudo draženje oči. Zelo strupeno za vodne organizme. Hranite/skladiščite ločeno od oblačil/vnetljivih materialov. Preprečiti sproščanje v okolje. PRI ZAUŽITJU: Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika.

Raztopina citrata (kat. št. 915-50ML)

Citronska kislina, 18 mmol/l, natrijev citrat, 9 mmol/l, natrijev klorid, 12 mmol/l, in tenzid. pH mora biti $3,6 \pm 0,1$.

Fosfatni pufer (kat. št. 1805-1VL)

Natrijev fosfat, 59,6 mM, kalijev fosfat, 7,1 mM.

Raztopina metilen modrega (kat. št. 1808-50ML)

Metilen modro, C.I. 52015, 1,4 % (m/v) v 95-% etanolu

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Aceton, reagent ACS
- Formaldehid, 37 %.
- Vodna kopel za vzdrževanje temperature 37 °C, zaščiten pred svetlobo

Shranjevanje in stabilnost

Raztopino α -naftilbutirata hranite v zamrzovalniku pri temperaturi pod 0 °C. Pred uporabo raztopino segrejte na 37 °C in jo dobro premešajte. Reagente zavrzite, če postanejo rumeni ali če nastane oborina.

Raztopino pararosanilina, fosfatni pufer, tablete natrijevega nitrita in raztopino metilen modrega shranjujte pri sobni temperaturi (18–26 °C), zaščitene pred svetlobo.

Raztopino tablet natrijevega nitrita in raztopino fosfatnega pufera hranite v hladilniku (2–8 °C).

Na oznakah reagentov je naveden datum izteka roka uporabnosti.

Raztopina citrata je primerna za uporabo v odsotnosti mikrobnosti.

Poslabšanje kakovosti

Raztopino α -naftilbutirata zavrzite, če reagent postane svetlo rumen ali če nastane oborina.

Raztopino pararosanilina zavrzite, če se po dodatku raztopine tablet natrijevega nitrita ne obarva jantarno.

Raztopino fosfatnega pufera je treba zavreči, če se pojavi motnost.

Priloga

Raztopino α -naftil butirata segrejte na 37 °C. Raztopina tablet natrijevega nitrita, 4 g/dl pripravite tako, da 1 tableto raztopite v 6,25 ml deionizirane vode. To raztopino hranite trdno zaprto pri temperaturi 2–8 °C. Pred uporabo segrejte na sobno temperaturo. Če se pojavi motnost, zavrzite.

Raztopino fosfatnega pufera pripravimo tako, da vsebino fosfatnega pufera raztopimo v 500 ml deionizirane vode. Koncentracija pufera je 0,067 mol/l, pH 7,7 pri 25 °C. Hranite v hladilniku (2–8 °C). Če je vidna mikroba rast, ga zavrzite.

Opomba

Rast mikrobov se lahko upočasni s filtriranjem skozi filtrirno enoto 0,22 mikrona.

Kontrastno barvilo metilen modro pripravimo tako, da dodamo 5 ml raztopine metilen modrega v 45 ml deionizirane vode. Dobro premešajte. Vsak dan pripravite sveže.

Citrato-acetonsko-formaldehidni fiksativ: 25 ml citratne raztopine dodajte 65 ml acetonu in 8 ml 37-odstotnega formaldehida. Prelijte v steklenico in jo trdno zaprite. Hranite v hladilniku (2–8 °C). Pred uporabo segrejte na 18–26 °C. Stabilno, če je hranjeno trdno zaprto v hladilniku.

Predvidnostni ukrepi

Izdelki IVD, ki so vključeni v ta komplet, 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 predvidnostne 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.

Vzorci je mogoče zbirati v EDTA ali heparinu. Po fiksaciji lahko stekelca hranite pri sobni temperaturi vsaj 2 tedna. Če je treba mononuklearne celice izolirati s sredstvom HISTOPAQUE®-1077, je treba separacijo opraviti v 4 urah, čeprav je bilo ugotovljeno, da so se dobro obnovile po 24 urah.¹ Za te postopke se krvni filmi, zlasti od levkopeničnih posameznikov, ne priporočajo, saj je ocenjevanje tega materiala precej zamudno. Uporabiti je treba pripravke iz citocentrifuge ali »buffy coat«. Film kostnega mozga in tipalni tkivni preparati ne povzročajo težav pri mikroskopskem ocenjevanju.

Opombe

Pri vsakem testu je treba vključiti celice zdravih darovalcev.

Celice, izolirane na gradientih iz polisaharozne in natrijevega diatrizaota, je za nadzor mogoče hraniti v tekočem dušiku (LN₂). V ta namen $1 \times 10^7 - 10^8$ celic zamrzemo pri $1 \pm 0,3$ °C na minuto v gojišču, ki vsebuje 50 % fetalnega telečjega serumu, 40 % RPMI-1640 (ali druge ustrezne tekočine za tkivne kulture) in 10 % dimetilsulfoksida (DMSO). Hraniti jih je mogoče v tekoči ali parni fazi LN₂.

Stekelca je treba oceniti s 1000-kratno povečavo. Didimijevi filtri lahko izboljšajo barvo zlasti pri difuznem barvanju α -NB.

Postopek

- Raztopino fosfatnega pufera predhodno segrejte na 37 °C.
- Tik pred fiksacijo dodajte 1,5 ml raztopine tablet natrijevega nitrita v 1,5 ml raztopine pararosanilina. Nežno premešajte z obračanjem in pustite stati vsaj 5 minut, nato dodajte v 40 ml predhodno ogrete raztopine fosfatnega pufera.
- Dodajte 5 ml raztopine α -naftilbutirata.
- Dobro premešajte in vlijte v kozarec Coplin. Raztopina bo jantarne barve. Nastanek oborine kaže na poslabšanje lastnosti reagenta.
- Stekelca za 10 sekund fiksirajte v citratno-acetonsko-formaldehidnem fiksativu pri sobni temperaturi (18–26 °C). Izpirajte v deionizirani vodi 45 sekund. Ne dovolite, da se stekelca posušijo.
- Takoj po izpiranju dajte stekelca v raztopino iz 4. koraka in jih inkubirajte 1 uro pri 37 °C. **Opomba:** Če stekelc po fiksaciji ne damo v inkubacijsko raztopino, jih je treba sušiti na zraku vsaj 45 minut.
- Po eni uri odstranite stekelca iz kozarca Coplin in jih 2–3 minute spirajte v tekoči vodi iz pipe. Raztopino za barvanje zavrzite.
- Pred kontrastnim barvanjem pustite, da se preparati sušijo na zraku vsaj 15 minut.
- 5 minut kontrastno barvajte z metilen modrim kontrastnim barvilom.
- Izperite v deionizirani vodi.

Značilnosti delovanja

Pri nekaterih limfocitih je opazen vzorec žariščnega (točkovnega) barvanja, ki je povezan z zrelimi celicami T, ki imajo receptorje Fc za IgM. Ta podskupina se do neke mere prekriva s populacijo celic T-pomagalk, vendar ni natančno merilo funkcije celic pomagalk. Razpršeno ali zrnato obarvani limfociti imajo receptorje za Fc del IgG in se do neke mere prekrivajo s populacijo supresorskih celic T.

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
1801	Raztopina α -naftilbutirata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
1804	Raztopina pararosanilina	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
1809	Tablete natrijevega nitrita	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
915	Raztopina citrata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
1805	Fosfatni pufer	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
1808	Raztopina metilen modrega	Lokacije aktivnosti	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.



- H226 Vnetljiva tekočina in hlapi.
- H272 Lahko okrepi požar; oksidativna snov.
- H290 Lahko je jedko za kovine.
- H301 Strupeno pri zaužitju.
- H312 + H332 Zdravju škodljivo v stiku s kožo ali pri vdihavanju.
- H315 Povzroča draženje kože.
- H319 Povzroča hudo draženje oči.
- H335 Lahko povzroči draženje dihalnih poti.
- H350 Lahko povzroči raka.
- H370 Škoduje organom (oči).
- H400 Zelo strupeno za vodne organizme.
- P210 Hraniti ločeno od vročine, vročih površin, isker, odprtega ognja in drugih virov vžiga. Kajenje je prepovedano.
- P273 Preprečiti sproščanje v okolje.
- P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P301 + P310 PRI ZAUŽITJU: Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P303 + P361 + P353 PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo.
- P304 + P340 + P312 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/ZDRAVNIKA.

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. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. Lab Med 17:94, 1986

Kontaktni podatki

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

Zgodovina revizij

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023

Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Pomoč za izjavo o diagnozi je prestavljena v predvideno uporabo. Revidiran je namen uporabe za uskladitev 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. Dodana so opozorila in nevarnosti. Odstranjene so reference za komplet 181A. 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 operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.