

Instructions for Use

Leukocyte Acid Phosphatase (TRAP) Kit

Procedure No. 387



Intended Use

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

Use of substituted naphthol AS phosphates in conjunction with diazonium salts for detection of acid phosphatase in human leukocytes was first reported by Goldberg and Barka.¹ The Sigma-Aldrich procedure for demonstrating this enzyme employs naphthol AS-BI phosphate and freshly diazotized fast garnet GBC salt. The latter compound was selected because it couples rapidly at acid pH, forming highly insoluble dye deposits.

Most procedures, including that provided by Sigma-Aldrich, employ stable diazonium salts. These are formed by reacting an arylamine with sodium nitrite in an acid medium.² The resulting diazonium chloride (usually unstable) can then be treated with compounds such as zinc chloride, zinc sulfate or naphthalene-1,6-disulfonate, forming stable salts. These stabilizers may exert marked inhibition upon some enzymatic systems, whereas the diazonium chlorides are less inhibitory.² For this reason, Sigma-Aldrich now provides a stable solution of fast garnet GBC base and sodium nitrite for acid phosphatase cytochemistry. To further simplify this method, a stable aqueous solution of naphthol AS-BI phosphate is also included. The availability of these stable solutions allows users to adjust working reagent volumes according to needs, eliminating waste.

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

Reagents

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution (Cat. No. 3871-10ML)
Naphthol AS-BI phosphoric acid, 12.5 mg/mL

Fast Garnet GBC Base Solution (Cat. No. 3872-10ML)
Fast garnet GBC base, 7.0 mg/mL, C.I. 11160, in 0.4 mol/L hydrochloric acid with stabilizer. Danger. Harmful if swallowed. Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction. May cause cancer.

Acetate Solution (Cat. No. 3863-50ML)
Acetate buffer, 2.5 mol/L, pH 5.2 ± 0.1

Tartrate Solution (Cat. No. 3873-10ML)
L(+)-Tartrate buffer, 0.335 mol/L, pH 4.9 ± 0.1. Warning. Causes mild skin irritation.

Sodium Nitrite Solution (Cat. No. 914-10ML)
Sodium nitrite, 0.1 mol/L

Citrate Solution (Cat. No. 915-50ML)
Citric acid, 18 mmol/L, sodium citrate, 9 mmol/L, sodium chloride, 12 mmol/L, and surfactant, pH 3.6 ± 0.1

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (Cat. No. GHS3-50ML)
Hematoxylin, certified, 6.0 g/L, C.I. 75290, sodium iodate, 0.6 g/L, aluminum sulfate, 52.8 g/L and stabilizers. Danger. Harmful if swallowed. Causes serious eye damage. Wear protective gloves/eye protection/face protection.

Special Materials Required but Not Provided

- Acetone, ACS Reagent
- Formaldehyde, 37%

Storage and Stability

Store Hematoxylin Solution at room temperature (18–26°C). Protect from light. Reagent label bears expiration date.

Store Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution, Fast Garnet GBC Base Solution, Acetate Solution, Tartrate Solution, Sodium Nitrite Solution and Citrate Solution at 2–8°C.

Store Fixative Solution refrigerated (2–8°C). Warm to 18–26°C prior to use. Stable up to 2 months, if stored tightly capped in refrigerator. Discard Fixative Solution if evaporation is noted and prepare fresh.

Deterioration

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution, Tartrate Solution should be discarded if turbidity develops.

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

Hematoxylin Solution should be discarded if solution turns brown (over-oxidized from air) or purple (loss of acidity).

Preparation

Reagents are provided ready for use.

Prepare Fixative Solution by combining 25 mL Citrate Solution, 65 mL acetone and 8 mL of 37% formaldehyde. Place in glass bottle and cap tightly.

Precautions

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

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

Procedure

Specimen Collection

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

Blood, bone marrow films, tissue touch preparations and cytocentrifuge preparations may be used. Either EDTA or heparin will serve as anticoagulants. Blood or bone marrow films may be stored fixed at room temperature (18–26°C) for several weeks or unfixed for several days without appreciable change in activity.³ Do not ship whole blood for assay at other laboratories. Send fixed or unfixed slides. Slides should be kept cool during transit. Allow films to dry at least 1 hour prior to fixation.

Notes

Test performance should be monitored by including blood film prepared from a healthy individual.

Procedure

- Prewarm sufficient deionized water for a day's use to 37°C. Check temperature before use.
- Bring Fixative Solution to room temperature (18–26°C). Fix slides by immersing in Fixative Solution for 30 seconds. Rinse thoroughly in deionized water: Do not allow slides to dry.
- To each of 2 test tubes add 0.5 mL Fast Garnet GBC Base Solution and 0.5 mL Sodium Nitrite Solution. Mix by gentle inversion for 30 seconds. Let stand 2 minutes.
- Label two 100 mL beakers A and B and add the following while mixing:

	Beaker A	Beaker B
Deionized water prewarmed to 37°C	45 mL	45 mL
Diazotized Fast Garnet GBC Solution (Step 3)	1.0 mL	1.0 mL
Naphthol AS-BI Phosphate Solution	0.5 mL	0.5 mL
Acetate Solution	2.0 mL	2.0 mL
Tartrate Solution	—	1.0 mL

- Label Coplin jars A and B and transfer solutions from beakers to appropriate Coplin jar. Warm solutions in jars to 37°C in water bath. Check that temperature is at 37°C before adding slides.
- Add slides to Coplin jars and incubate 1 hour in 37°C water bath protected from light.
- After 1 hour, rinse slides thoroughly in deionized water, then counterstain 2 minutes in Hematoxylin Solution, Gill No. 3.
- Rinse several minutes in alkaline tap water to blue nuclei.
- Air dry and evaluate microscopically. Coverslipping is not recommended since dye fades with time.

Performance Characteristics

Results

Stained blood films are usually evaluated subjectively for the presence or absence of tartrate-resistant enzyme. In the absence of tartaric acid, most leukocytes demonstrate granular sites of activity. When incubated with tartrate, an occasional granule may be observed in lymphocytes and some specialized macrophages.⁴ In blood smears a positive reaction is denoted by the presence of more than two cells with diffuse and intense activity, i.e., more than 40 granules.⁴ To evaluate Golgi staining, characteristic of thymus derived lymphocytes (T-cells), Sigma-Aldrich Procedure No. 181 is recommended.

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

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

Analytical Performance Characteristics

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

Cat. No	Product Description	Target	Intra-assay Specificity	Intra-assay Sensitivity	Inter-assay Specificity	Inter-assay Sensitivity
3871	Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3872	Fast Garnet GBC Base Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3873	Tartrate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3863	Acetate Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
914	Sodium Nitrite Solution	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
GHS3	Hematoxylin Solution, Gill No. 3	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3

Warnings and Hazards

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

387A:



- H290 May be corrosive to metals.
- H302 Harmful if swallowed.
- H314 Causes severe skin burns and eye damage.
- H350 May cause cancer.
- H373 May cause damage to organs (Kidney) through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- P202 Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P301 + P312 IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water.
- P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

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

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

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

References

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Contact Information

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

Revision History

Rev. 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. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Removed reference number 5. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Anweisungen für den Gebrauch

Saure Phosphatase, Leukozyten (TRAP) – Kit

Verfahren Nr. 387



Verwendungszweck

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

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

Bei den meisten Verfahren, auch bei den Verfahren von Sigma-Aldrich, werden stabile Diazoniumsalze verwendet. Diese werden durch Reaktion eines Arylamins mit Natriumnitrit in einem sauren Medium gebildet.² Das daraus entstandene Diazoniumchlorid (gewöhnlich instabil) kann anschließend mit Verbindungen wie Zinkchlorid, Zinksulfat oder Naphthalin-1,6-disulfonat behandelt werden, die stabile Salze bilden. Diese Stabilisatoren können einige Enzymsysteme erheblich hemmen. Diazoniumchloride wirken hingegen weniger hemmend.² Aus diesem Grund bietet Sigma-Aldrich jetzt eine stabile Lösung mit einer Echtgranat-GBC-Base und Natriumnitrit für die Zytochemie der sauren Phosphatase an. Zur weiteren Vereinfachung dieser Methode wird auch eine stabile wässrige Lösung von Naphthol AS-BI Phosphat verwendet. Die Verfügbarkeit dieser stabilen Lösungen ermöglicht es Anwendern, die Volumina der Arbeitsreagenzien nach Bedarf anzupassen und so Abfall zu vermeiden.

Entsprechend dem Verfahren von Sigma-Aldrich werden Blutausstriche in einer Lösung aus Naphthol AS-BI Phosphorsäure und frisch diazotiertem Echtgranat-GBC inkubiert. Duplikatausstriche können mit einer L(+)-tartrathaltigen Lösung behandelt werden. Das durch enzymatische Hydrolyse freigesetzte Naphthol AS-BI verbindet sich sofort mit dem Echtgranat-GBC und bildet in den Bereichen, in denen es aktiv ist, lösliche rotbraune Ablagerungen. Zellen, die weinsäureempfindliche saure Phosphatase enthalten, weisen keine Aktivität auf. Eine solche Behandlung hat auf mononukleäre Zellen mit weinsäureresistenter Phosphatase keinen Effekt.

Reagenzien

Naphthol AS-BI Phosphorsäure-Lösung (Kat.-Nr. 3871-10ML)

Naphthol AS-BI Phosphorsäure, 12,5 mg/ml

Echtgranat-GBC-Basislösung (Kat.-Nr. 3872-10ML)

Echtgranat-GBC-Basis, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, in 0,4 mol/l Salzsäure mit Stabilisator. Gefahr. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden. Kann eine allergische Reaktion der Haut verursachen. Kann Krebs erzeugen.

Acetatlösung (Kat.-Nr. 3863-50ML)

Acetatpuffer, 2,5 mol/l, pH-Wert 5,2 ±0,1

Weinsteinlösung (Kat.-Nr. 3873-10ML)

L(+) Tartratpuffer, 0,335 mol/l, pH-Wert 4,9 ±0,1. Warnung. Verursacht leichte Hautreizungen.

Natriumnitrit-Lösung (Kat.-Nr. 914-10ML)

Natriumnitrit, 0,1 mol/l

Citratlösung (Kat.-Nr. 915-50ML)

Zitronensäure, 18 mmol/l, Natriumcitrat, 9 mmol/l, Natriumchlorid, 12 mmol/l und Tensid, pH-Wert 3,6 ±0,1

Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 (Kat.-Nr. GHS3-50ML)

Hämatoxylin, zertifiziert, 6,0 g/l, C.I. 75290, Natriumiodat, 0,6 g/l, Aluminiumsulfat, 52,8 g/l und Stabilisatoren. Gefahr. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht schwere Augenschäden. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

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

- Aceton, ACS-Reagenz
- Formaldehyd, 37 %

Lagerung und Stabilität

Hämatoxylin-Lösung bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. Vor Licht schützen. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Reagenzes angegeben.

Naphthol AS-BI Phosphorsäurelösung, Echtgranat-GBC-Basislösung, Acetatlösung, Tartratlösung, Natriumnitritlösung und Citratlösung bei 2–8 °C lagern.

Die Fixierlösung im Kühlschrank aufbewahren (2–8 °C). Vor dem Gebrauch auf 18–26 °C erwärmen. Bis zu 2 Monate stabil, wenn die Lagerung fest verschlossen im Kühlschrank erfolgt. Im Falle von Verdunstung die Fixierlösung entsorgen und neu ansetzen.

Zerfall

Naphthol AS-BI Phosphorsäurelösung und Tartratlösung sollten bei Auftreten von Trübungen entsorgt werden.

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

Die Hämatoxylinlösung muss entsorgt werden, wenn sie braun (Überoxidation durch Luft) oder violett (Säureverlust) wird.

Vorbereitung

Die Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert.

Fixierungslösung aus 25 ml Citratlösung, 65 ml Aceton und 8 ml 37%igem Formaldehyd zubereiten. In eine Glasflasche füllen und fest verschließen.

Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Verfahren

Probenentnahme

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

Es können Blut, Knochenmarksausstriche, Gewebetupfpräparate und Zytocentrifugenpräparate verwendet werden. Als Antikoagulanzen können EDTA und Heparin verwendet werden. Blut- und Knochenmarksausstriche können mehrere Wochen lang fixiert bei Raumtemperatur (18–26 °C) bzw. mehrere Tage lang unfixiert aufbewahrt werden, ohne dass eine bedeutende Veränderung der Aktivität eintritt.³ Vollblutproben dürfen nicht zur Untersuchung an andere Labors geschickt werden. Stattdessen fixierte oder nicht fixierte Objektträger senden. Die Objektträger sollten während des Transports kühl gelagert werden. Ausstriche vor dem Fixieren mindestens 1 Stunde trocknen lassen.

Anmerkungen

Die Leistungsfähigkeit des Tests sollte durch die Einbeziehung eines Blutausstrichs einer gesunden Person kontrolliert werden.

Verfahren

1. Eine für einen Tag ausreichende Menge entionisiertes Wasser auf 37 °C erwärmen. Temperatur vor Gebrauch prüfen.
2. Fixierlösung auf Raumtemperatur (18–26 °C) erwärmen. Die Objektträger durch Eintauchen in die Fixierlösung für 30 Sekunden fixieren. Gründlich in entionisiertem Wasser abspülen: Die Objektträger nicht trocknen lassen.
3. In die 2 Reagenzgläser jeweils 0,5 ml der Echtgranat-GBC-Basislösung und 0,5 ml Natriumnitritlösung geben. Das Ganze 30 Sekunden lang durch vorsichtiges Schwenken mischen. 2 Minuten stehen lassen.
4. Zwei 100-ml-Bechergläser mit A und B beschriften und die folgenden Substanzen während des Mischens hinzugeben:

	Becherglas A	Becherglas B
Entionisiertes Wasser, vorgewärmt auf 37 °C	45 ml	45 ml
Diazotierte Echtgranat-GBC-Lösung (Schritt 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naphthol AS-BI Phosphatlösung	0,5 ml	0,5 ml
Acetatlösung	2,0 ml	2,0 ml
Tartratlösung	–	1,0 ml

5. Coplin-Färbetröge mit A und B beschriften und die Lösungen aus den Bechergläsern in die entsprechenden Coplin-Färbetröge füllen. Die Lösungen in den Trögen im Wasserbad auf 37 °C erwärmen. Vor dem Einsetzen der Objektträger überprüfen, dass die Temperatur 37 °C beträgt.
6. Die Objektträger in Coplin-Färbetröge geben und 1 Stunde im 37 °C warmen Wasserbad vor Licht geschützt inkubieren.
7. Nach 1 Stunde die Objektträger gründlich in entionisiertem Wasser abspülen. Anschließend 2 Minuten in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, gegenfärben.
8. Einige Minuten mit alkalischem Leitungswasser abspülen, um die Zellkerne bläulich erscheinen zu lassen.
9. An der Luft trocknen lassen und mikroskopisch untersuchen. Das Abdecken mit einem Deckglas wird nicht empfohlen, da der Farbstoff mit der Zeit verblasst.

Leistungsmerkmale

Ergebnisse

Gefärbte Blutausstriche werden üblicherweise subjektiv auf das Vorhandensein oder Fehlen von tartratresistentem Enzym bewertet. In Abwesenheit von Weinsäure weisen die meisten Leukozyten Bereiche mit granulärer Aktivität auf. Bei der Inkubation mit Tartrat kann gelegentlich eine Granulierung in Lymphozyten und einigen spezialisierten Makrophagen beobachtet werden.⁴ In Blutausstrichen zeigt sich eine positive Reaktion durch das Vorhandensein von mehr als zwei Zellen mit diffuser und intensiver Aktivität, d. h. mit mehr als 40 Granula.⁴ Zur Beurteilung der Golgi-Färbung, die für aus dem Thymus stammende Lymphozyten (T-Zellen) charakteristisch ist, wird das Sigma-Aldrich-Verfahren Nr. 181 empfohlen.

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

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

Analytische Leistungsmerkmale

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

Kat.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
3871	Naphthol AS-BI Phosphorsäure-Lösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3872	Echtgranat-GBC-Basislösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3873	Tartratlösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3863	Acetatlösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
914	Natriumnitrit-Lösung	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
GHS3	Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3

Warnungen und Gefahren

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

387A:



- H290 Kann ätzend auf Metalle wirken.
- H302 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.
- H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und Augenschäden.
- H350 Kann Krebs erzeugen.
- H373 Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe (Niere) schädigen.
- P202 Nicht handhaben, bevor Sie nicht alle Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P301 + P312 BEI VERSCHLUCKEN: Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.
- P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen.
- P304 + P340 + P310 BEIM EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P305 + P351 + P338 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen.

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

Symbol-Definitionen

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

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

Referenzen

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Jänckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktinformationen

Um eine Bestellung aufzugeben, besuchen Sie bitte unsere Website unter [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Für den technischen Service besuchen Sie bitte die technische Service-Seite auf unserer Website unter [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Material Sicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Referenznummer 5 wurde entfernt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. CH-REP-Informationen wurden hinzugefügt.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Mode d'emploi

Kit de phosphatase acide leucocytaire (TRAP)

Procédure n° 387



Utilisation prévue

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

L'utilisation de phosphates de naphthol AS substitués avec des sels de diazonium pour la détection de la phosphatase acide dans les leucocytes humains a été décrite pour la première fois par Goldberg et Barka.¹ La procédure de Sigma-Aldrich pour la mise en évidence de cette enzyme utilise le phosphate de naphthol AS-BI et du sel de grenat solide GBC fraîchement diazotisé. Ce dernier composé a été choisi parce qu'il se couple rapidement à un pH acide, formant des dépôts de colorant hautement insolubles.

La plupart des procédures, y compris celles fournies par Sigma-Aldrich, utilisent des sels de diazonium stables. Ces sels sont formés en faisant réagir une arylamine avec du nitrite de sodium en milieu acide.² Le chlorure de diazonium qui en résulte (généralement instable) peut ensuite être traité avec des composés tels que du chlorure de zinc, du sulfate de zinc ou du naphthalène-1,6-disulfonate, formant ainsi des sels stables. Ces stabilisateurs peuvent exercer une inhibition marquée sur certains systèmes enzymatiques, alors que les chlorures de diazonium sont moins inhibiteurs.² C'est pourquoi Sigma-Aldrich propose désormais une solution stable de base grenat solide GBC et de nitrite de sodium pour la cytochimie de la phosphatase acide. Pour simplifier davantage cette méthode, une solution aqueuse stable de phosphate de naphthol AS-BI est également incluse. La disponibilité de ces solutions stables permet aux utilisateurs d'ajuster les volumes de travail des réactifs en fonction des besoins, éliminant ainsi le gaspillage.

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

Réactifs

Solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique (réf. 3871-10ML)

Naphthol AS-BI-acide phosphorique, 12,5 mg/ml.

Solution de base grenat solide GBC (réf. 3872-10ML)

Base grenat solide GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, dans de l'acide chlorhydrique à 0,4 mol/l avec stabilisateur. Danger. Nocif en cas d'ingestion. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée. Peut provoquer le cancer.

Solution d'acétate (réf. 3863-50ML)

Tampon acétate, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1.

Solution de tartrate (réf. 3873-10ML)

Tampon L-(+)-tartrate, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Avertissement. Provoque une irritation cutanée légère.

Solution de nitrite de sodium (réf. 914-10ML)

Nitrite de sodium, 0,1 mol/l.

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, pH 3,6 ± 0,1.

Solution d'hématoxyline de Gill n° 3 (réf. GHS3-50ML)

Hématoxyline, certifiée, 6,0 g/l, C.I. 75290, iodate de sodium, 0,6 g/l, sulfate d'aluminium, 52,8 g/l et stabilisateurs. Danger. Nocif en cas d'ingestion. Provoque des lésions oculaires graves. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Acétone, de qualité réactif ou de qualité ACS
- Formaldéhyde, 37 %

Conservation et stabilité

Conserver la solution d'hématoxyline à température ambiante (entre 18 et 26 °C). À conserver à l'abri de la lumière. L'étiquette des réactifs porte une date limite d'utilisation.

Conserver la solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique, la solution de base grenat solide GBC, la solution d'acétate, la solution de tartrate, la solution de nitrite de sodium et la solution de citrate entre 2 et 8 °C.

Conserver la solution de fixation au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). L'équilibrer entre 18 et 26 °C avant de l'utiliser. Elle est stable jusqu'à 2 mois si elle est conservée hermétiquement fermée au réfrigérateur. Jeter la solution de fixation si l'on constate une évaporation et en préparer une nouvelle.

Détérioration

La solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique et la solution de tartrate doivent être jetées si elles deviennent troubles.

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

Jeter la solution d'hématoxyline si elle devient marron (trop oxydée par l'air) ou violette (perte d'acidité).

Préparation

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi.

Préparer la solution de fixation en combinant 25 ml de solution de citrate, 65 ml d'acétone et 8 ml de formaldéhyde à 37 %. Verser la solution dans un flacon en verre et boucher hermétiquement.

Précautions

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

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

Procédure

Prélèvement des échantillons

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

Il est possible d'utiliser des frottis sanguins ou médullaires, des empreintes tissulaires et des préparations obtenues par cyto centrifugation. L'EDTA ou l'héparine serviront d'anticoagulants. Les frottis sanguins ou médullaires peuvent être conservés fixés à température ambiante (entre 18 et 26 °C) pendant plusieurs semaines ou non fixés pendant plusieurs jours sans aucun changement notable de l'activité.³ Ne pas expédier le sang total à analyser vers d'autres laboratoires. Envoyer soit des lames fixées soit des lames non fixées. Les lames doivent être conservées au frais pendant le transport. Laisser les frottis sécher au moins 1 heure avant de les fixer.

Remarques

Les performances du test doivent être contrôlées en incluant un frottis sanguin préparé à partir d'un individu en bonne santé.

Procédure

- Préchauffer suffisamment d'eau déionisée à 37 °C pour une journée d'utilisation. Vérifier la température avant de l'utiliser.
- Équilibrer la solution de fixation à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Fixer les lames en les immergeant dans la solution de fixation pendant 30 secondes. Rincer soigneusement à l'eau déionisée. Ne pas laisser les lames sécher.
- Dans deux (2) tubes à essai, ajouter 0,5 ml de solution de grenat solide GBC et 0,5 ml de solution de nitrite de sodium. Mélanger délicatement par inversion pendant 30 secondes. Laisser reposer 2 minutes.
- Étiqueter deux béchers de 100 ml A et B et ajouter les éléments suivants tout en mélangeant :

	Bécher A	Bécher B
Eau déionisée préchauffée à 37 °C	45 ml	45 ml
Solution de grenat solide GBC diazoté (étape 3)	1,0 ml	1,0 ml
Solution de phosphate de naphthol AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Solution d'acétate	2,0 ml	2,0 ml
Solution de tartrate	—	1,0 ml

- Étiqueter des cuves à coloration de Coplin A et B et transférer les solutions des béchers dans chaque cuve à coloration de Coplin appropriée. Chauffer les solutions contenues dans les cuves dans un bain-marie à 37 °C. Vérifier que la température est bien à 37 °C avant d'ajouter les lames.
- Ajouter les lames dans les cuves à coloration de Coplin et laisser incuber pendant 1 heure au bain-marie à 37 °C à l'abri de la lumière.
- Au bout d'une (1) heure, rincer soigneusement les lames à l'eau déionisée, puis contre-colorer dans la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 pendant 2 minutes.
- Rincer plusieurs minutes dans de l'eau du robinet alcaline pour rendre les noyaux bleus.
- Sécher à l'air libre et examiner au microscope. Il est déconseillé de monter les lames avec des lamelles couvre-objet, car la coloration s'estompe avec le temps.

Caractéristiques de performance

Résultats

Les frottis sanguins colorés sont généralement évalués de manière subjective ; le but étant de déterminer la présence ou l'absence de l'enzyme résistante au tartrate. En l'absence d'acide tartrique, la plupart des leucocytes présentent des sites d'activité granulaires. Lorsqu'ils sont incubés avec du tartrate, une granulation occasionnelle peut être observée dans les lymphocytes et dans certains macrophages spécialisés.⁴ Sur les frottis sanguins, une réaction positive est indiquée par la présence de plus de deux cellules présentant une activité intense diffuse, c'est-à-dire présentant plus de 40 granulations.⁴ Pour évaluer la coloration de Golgi, caractéristique des lymphocytes dérivés du thymus (lymphocytes T), la procédure n° 181 de Sigma-Aldrich est recommandée.

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

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

Caractéristiques de performance analytique

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

Réf.	Description du produit	Cible	Spécificité intra-série	Sensibilité intra-série	Spécificité inter-séries	Sensibilité inter-séries
3871	Solution de naphthol AS-BI-acide phosphorique	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3872	Solution de base grenat solide GBC	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3873	Solution de tartrate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3863	Solution d'acétate	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
914	Solution 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
GHS3	Solution d'hématoxyline de Gill n° 3	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3

Avertissements et risques

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

387A :



H290 Peut être corrosif pour les métaux.

H302 Nocif en cas d'ingestion.

H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H350 Peut provoquer le cancer.

H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes (reins) à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée par ingestion.

P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.

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

P301 + P312 EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

P303 + P361 + P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.

P304 + P340 + P310 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

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

Définition des symboles

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

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <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

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

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. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Suppression de la référence bibliographique n° 5. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Ajout des informations sur le représentant agréé en Suisse.



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



MDSS 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 fosfatasi acida leucocitaria (TRAP)

Procedura n. 387



Uso previsto

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

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

La maggior parte delle procedure, inclusa quella fornita da Sigma-Aldrich, utilizza sali di diazonio stabili. Questi derivano dalla reazione di arilamina con nitrito di sodio in un mezzo acido.² Il risultante cloruro di diazonio (solitamente instabile) può essere quindi trattato con composti quali cloruro di zinco, solfato di zinco o naftalene-1,6-disolfonato, formando sali stabili. A differenza dei cloruri di diazonio, questi stabilizzanti possono essere fortemente inibenti verso alcuni sistemi enzimatici.² Per questo motivo, Sigma-Aldrich fornisce ora una soluzione stabile di Fast Garnet GBC Base e nitrito di sodio per la citochimica della fosfatasi acida. Per semplificare ulteriormente questo metodo, la dotazione include anche una soluzione acquosa stabile di naftolo AS-BI fosfato. La disponibilità di queste soluzioni stabili consente agli utenti di regolare i volumi dei reagenti di lavoro in funzione delle esigenze, eliminando gli sprechi.

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

Reagenti

Soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI (N. di cat. 3871-10ML)

Acido fosforico naftolo AS-BI, 12,5 mg/ml.

Soluzione di Fast Garnet GBC Base (N. di cat. 3872-10ML)

Soluzione basica contenente Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, in acido cloridrico 0,4 mol/l con stabilizzante. Pericolo. Nocivo se ingerito. Provoca gravi ustioni cutanee e lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Può provocare il cancro.

Soluzione di acetato (N. di cat. 3863-50ML)

Tampone acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2±0,1.

Soluzione di tartrato (N. di cat. 3873-10ML)

Tampone L(+)-tartrato, 0,335 mol/l, pH 4,9±0,1. Avvertenza. Provoca una lieve irritazione cutanea.

Soluzione di nitrito di sodio (N. di cat. 914-10ML)

Nitrito di sodio, 0,1 mol/l.

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, pH 3,6±0,1.

Soluzione di ematossilina di Gill, N. 3 (N. di cat. GHS3-50ML)

Ematossilina certificata, 6,0 g/l, C.I. 75290, iodato di sodio, 0,6 g/l, solfato di alluminio, 52,8 g/l e stabilizzanti. Pericolo. Nocivo se ingerito. Provoca gravi lesioni oculari. Indossare guanti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Acetone, reagente grado ACS
- Formaldeide, 37%

Conservazione e stabilità

Conservare la soluzione di ematossilina a temperatura ambiente (18-26 °C). Tenere al riparo dalla luce. L'etichetta dei reagenti riporta la data di scadenza.

Conservare la soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI, la soluzione di Fast Garnet GBC Base, la soluzione di acetato, la soluzione di tartrato, la soluzione di nitrito di sodio e la soluzione di citrato a 2-8 °C.

Conservare la soluzione fissativa in frigorifero (2-8 °C). Scaldare a 18-26 °C prima dell'uso. Stabile fino a 2 mesi se conservata ben chiusa in frigorifero. Se si nota evaporazione, scartare la soluzione fissativa e prepararla ex novo.

Deterioramento

Scartare la soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI e la soluzione di tartrato se appaiono torbide.

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

Scartare soluzione di ematossilina se diventa marrone (iperossidazione causata dall'aria) o porpora (perdita di acidità).

Preparazione

I reagenti sono forniti pronti per l'uso.

Per preparare la soluzione fissativa, unire 25 ml di soluzione di citrato, 65 ml di acetone e 8 ml di formaldeide al 37%. Versare in un flaconcino di vetro e avvitare bene il tappo.

Precauzioni

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

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

Procedura

Raccolta dei campioni

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

È possibile utilizzare strisci ematici, strisci midollari, preparati ottenuti per apposizione di tessuti e con citocentrifuga. Utilizzare EDTA o eparina come anticoagulante. Gli strisci ematici o midollari fissati possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C) per diverse settimane; se non fissati possono essere conservati per diversi giorni senza cambiamenti apprezzabili nell'attività.³ Non spedire il sangue intero da analizzare ad altri laboratori. Inviare vetrini fissati o non fissati. Conservare i vetrini in borsa termica durante il trasporto. Lasciare asciugare i vetrini per almeno 1 ora prima della fissazione.

Note

Le prestazioni del test possono essere verificate includendo uno striscio ematico proveniente da un donatore sano.

Procedura

1. Preriscaldare a 37 °C una quantità di acqua deionizzata sufficiente per l'uso dell'intera giornata. Controllare la temperatura prima dell'uso.
2. Portare la soluzione fissativa a temperatura ambiente (18-26 °C). Fissare i vetrini immergendoli nella soluzione fissativa per 30 secondi. Sciacquare accuratamente con acqua deionizzata. Non far asciugare i vetrini.
3. Versare in ciascuna delle 2 provette per test 0,5 ml di soluzione di Fast Garnet GBC Base e 0,5 ml di soluzione di nitrito di sodio. Mescolare delicatamente per inversione per 30 secondi. Lasciare riposare per 2 minuti.
4. Contrassegnare due becher da 100 ml con un'etichetta riportante rispettivamente A e B e procedere come segue, mescolando dopo ogni aggiunta:

	Becher A	Becher B
Acqua deionizzata, preriscaldata a 37 °C	45 ml	45 ml
Soluzione di Fast Garnet GBC diazotata (punto 3)	1,0 ml	1,0 ml
Soluzione di fosfato naftolo AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Soluzione di acetato	2,0 ml	2,0 ml
Soluzione di tartrato	—	1,0 ml

5. Contrassegnare due vaschette tipo Coplin con un'etichetta riportante rispettivamente A e B e trasferire le soluzioni dai becher alla vaschetta tipo Coplin corrispondente. Scaldare le soluzioni versate nelle vaschette a bagnomaria a 37 °C. Prima di immergere i vetrini, verificare che la temperatura sia di 37 °C.
6. Immergere i vetrini nelle vaschette tipo Coplin e incubarli per 1 ora a bagnomaria a 37 °C, al riparo dalla luce.
7. Dopo 1 ora, sciacquare accuratamente i vetrini con acqua deionizzata, quindi controcolorarli per 2 minuti in soluzione di ematossilina di Gill, N. 3.
8. Sciacquare per diversi minuti con acqua corrente alcalina fino ai nuclei blu.
9. Asciugare all'aria ed esaminare al microscopio. Si sconsiglia l'uso del coprioggetto perché il colorante sbiadisce con il tempo.

Caratteristiche prestazionali

Risultati

Dopo la colorazione, gli strisci ematici si analizzano di solito soggettivamente per rilevare la presenza o l'assenza dell'enzima tartrato-resistente. In assenza di acido tartarico, quasi tutti i leucociti evidenziano sedi di attività granulare. Se incubati con tartrato, si può rilevare un granulo sporadico nei linfociti e in alcuni macrofagi.⁴ Negli strisci ematici, una reazione positiva è denotata dalla presenza di più di due cellule con attività diffusa e intensa, vale a dire oltre 40 granuli.⁴ Per valutare la colorazione di Golgi, caratteristica dei linfociti derivati dal timo (cellule T), si consiglia la procedura n. 181 di Sigma-Aldrich.

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

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

Caratteristiche di prestazione analitica

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

N. di cat.	Descrizione del prodotto	Target	Specificità intra-saggio	Sensibilità intra-saggio	Specificità inter-saggio	Sensibilità inter-saggio
3871	Soluzione di acido fosforico naftolo AS-BI	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3872	Soluzione di Fast Garnet GBC Base	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3873	Soluzione di tartrato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3863	Soluzione di acetato	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
914	Soluzione 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
GHS3	Soluzione di ematosillina di Gill, N. 3	Nuclei	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3

Avvertenze e pericoli

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

387A:



- H290 Può essere corrosivo per i metalli.
- H302 Nocivo se ingerito.
- H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
- H350 Può provocare il cancro.
- H373 Può provocare danni agli organi (reni) in caso di esposizione prolungata o ripetuta, se ingerito.
- P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
- P301 + P312 IN CASO DI INGESTIONE: in presenza di malessere, contattare 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 + P310 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

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

Definizioni dei simboli

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

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

Bibliografia

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962.
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113.
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978.
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119.

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". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Eliminato riferimento bibliografico numero 5. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta informazione per Mandatario in Svizzera.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

Instrucciones de uso

Kit de fosfatasa ácida leucocitaria (TRAP)

Procedimiento n.º 387



Uso previsto

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

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

La mayoría de los procedimientos, incluido el proporcionado por Sigma-Aldrich, emplean sales de diazonio estables. Se forman haciendo reaccionar una arilamina con nitrato de sodio en un medio ácido.² El cloruro de diazonio resultante (normalmente inestable) puede tratarse entonces con compuestos como el cloruro de zinc, el sulfato de zinc o el naftaleno-1,6-disulfonato, formando sales estables. Estos estabilizadores pueden ejercer una marcada inhibición sobre algunos sistemas enzimáticos, mientras que los cloruros de diazonio son menos inhibidores.² Por esta razón, Sigma-Aldrich proporciona ahora una solución estable de base Fast Garnet GBC y nitrato de sodio para la citología de la fosfatasa ácida. Para simplificar aún más este método, también se incluye una solución acuosa estable de fosfato de naftol AS-BI. La disponibilidad de estas soluciones estables permite a los usuarios ajustar los volúmenes de reactivos de trabajo según las necesidades, eliminando los residuos.

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

Reactivos

Naftol AS-BI, solución de ácido fosfórico (N.º de cat. 3871-10ML)

Naftol AS-BI, ácido fosfórico, 12,5 mg/ml

Solución base Fast Garnet GBC (N.º de cat. 3872-10ML)

Base Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, en ácido clorhídrico 0,4 mol/l con estabilizador. Peligro. Nocivo en caso de ingestión. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción cutánea alérgica. Puede provocar cáncer.

Solución de acetato (N.º de cat. 3863-50ML)

Solución amortiguadora de acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Solución de tartrato (N.º de cat. 3873-10ML)

Solución amortiguadora de L(+)-tartrato, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Advertencia. Provoca irritación cutánea leve.

Solución de nitrato de sodio (N.º de cat. 914-10ML)

Nitrato de sodio, 0,1 mol/l

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, pH 3,6 ± 0,1

Solución de hematoxilina, Gill N.º 3 (N.º de cat. GHS3-50ML)

Hematoxilina certificada, 6 g/l, C.I. 75290, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l y estabilizantes. Peligro. Nocivo en caso de ingestión. Provoca lesiones oculares graves. Usar guantes/equipo de protección para los ojos/la cara.

Material especial necesario pero no suministrado

- Acetona, reactivo ACS
- Formaldehído al 37 %

Almacenamiento y estabilidad

Conservar la solución de hematoxilina a temperatura ambiente (18-26 °C). Proteger de la luz. La etiqueta del reactivo indica la fecha de caducidad.

Almacenar la solución de ácido fosfórico de naftol AS-BI, la solución base Fast Garnet GBC, la solución de acetato, la solución de tartrato, la solución de nitrato de sodio y la solución de citrato a 2-8 °C.

Almacenar la solución fijadora en el refrigerador (2-8 °C). Calentar a 18-26 °C antes de usar. Estable hasta 2 meses, si se almacena bien tapado en el frigorífico. Desechar la solución fijadora si se observa evaporación y preparar una nueva.

Deterioro

La solución de ácido fosfórico de naftol AS-BI, solución de tartrato, debe desecharse si se produce turbidez.

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

La solución de hematoxilina se debe desechar si se vuelve marrón (sobreoxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez).

Preparación

Los reactivos se suministran listos para su uso.

Preparar la solución fijadora combinando 25 ml de solución de citrato, 65 ml de acetona y 8 ml de formaldehído al 37 %. Colocar en un frasco de vidrio y tapar bien.

Precauciones

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

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

Procedimiento

Recogida de la muestra

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

Se puede utilizar sangre, láminas de médula ósea, improntas citológicas de tejido y preparaciones para citocentrífuga. El EDTA o la heparina servirán como anticoagulantes. Las láminas de sangre o de médula ósea pueden almacenarse fijadas a temperatura ambiente (18-26 °C) durante varias semanas o sin fijar durante varios días sin que se produzcan cambios apreciables en la actividad.³ No enviar sangre entera para su análisis en otros laboratorios. Enviar portaobjetos fijados o no fijados. Los portaobjetos deben mantenerse frescos durante el transporte. Dejar que las láminas se sequen al menos 1 hora antes de la fijación.

Notas

El rendimiento de la prueba debe controlarse incluyendo láminas de sangre preparadas a partir de una persona sana.

Procedimiento

1. Precalentar suficiente agua desionizada para un día de uso a 37 °C. Comprobar la temperatura antes de usarla.
2. Llevar la solución fijadora a temperatura ambiente (18-26 °C). Fijar los portaobjetos sumergiéndolos en la solución fijadora durante 30 segundos. Aclarar a fondo con agua desionizada. No dejar que los portaobjetos se sequen.
3. En cada uno de los 2 tubos de ensayo, añadir 0,5 ml de solución base Fast Garnet GBC y 0,5 ml de solución de nitrato de sodio. Mezclar por inversión suave durante 30 segundos. Dejar reposar 2 minutos.
4. Rotular dos vasos de precipitados de 100 ml con A y B y añadir lo siguiente al mezclar:

	Vaso A	Vaso B
Agua desionizada, precalentada a 37 °C	45 ml	45 ml
Solución de Fast Garnet GBC diazotizado (paso 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naftol AS-BI, solución de fosfato	0,5 ml	0,5 ml
Solución de acetato	2,0 ml	2,0 ml
Solución de tartrato	—	1,0 ml

5. Etiquetar los frascos Coplin con A y B y transferir las soluciones de los vasos de precipitados al frasco Coplin apropiado. Calentar las soluciones en los frascos a 37 °C en un baño de agua. Comprobar que la temperatura está a 37 °C antes de añadir los portaobjetos.
6. Añadir los portaobjetos a los frascos Coplin e incubar 1 hora en un baño de agua a 37 °C protegido de la luz.
7. Después de 1 hora, enjuagar los portaobjetos a fondo en agua desionizada y, a continuación, realizar una contratinción durante 2 minutos en solución de hematoxilina, Gill N.º 3.
8. Aclarar varios minutos en agua alcalina del grifo para azulizar los núcleos.
9. Secar al aire y evaluar al microscopio. No se recomiendan los cubreobjetos, ya que el tinte se desvanece con el tiempo.

Características de funcionamiento

Resultados

Por lo general, las láminas de sangre teñidas se evalúan subjetivamente para detectar la presencia o ausencia de enzima resistente al tartrato. En ausencia de ácido tartárico, la mayor parte de los leucocitos muestran lugares de actividad granular. Cuando se incuban con tartrato, puede observarse un gránulo ocasional en los linfocitos y en algunos macrófagos especializados.⁴ En los frotis de sangre, una reacción positiva se denota por la presencia de más de dos células con actividad difusa e intensa, es decir, más de 40 gránulos.⁴ Para evaluar la tinción de Golgi, característica de los linfocitos derivados del timo (linfocitos T), se recomienda el procedimiento n.º 181 de Sigma-Aldrich.

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

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

Características de funcionamiento analítico

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

N.º de cat.	Descripción del producto	Objetivo	Especificidad intraensayo	Sensibilidad intraensayo	Especificidad interensayo	Sensibilidad interensayo
3871	Solución de ácido fosfórico de naftol AB-BI	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3872	Solución base Fast Garnet GBC	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3873	Solución de tartrato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3863	Solución de acetato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
914	Solución de nitrato 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
GHS3	Solución de hematoxilina Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Advertencias y peligros

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

387A:



H290 Puede ser corrosivo para los metales.

H302 Nocivo en caso de ingestión.

H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.

H350 Puede provocar cáncer.

H373 Puede provocar daños en los órganos (riñón) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.

P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad.

P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.

P301 + P312 EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si la persona no se encuentra bien.

P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse.

P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando.

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

Definiciones de los símbolos

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

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

Referencias

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Información de contacto

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

Historial de revisiones

Rev. 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 revisado el uso previsto para adaptarlo a las directrices europeas sobre DIV. Se ha actualizado la ficha de datos de seguridad del material a la ficha de datos de seguridad. Se ha actualizado la información de contacto. Se ha eliminado la instrucción de seguir el CLSI para la recogida de muestras. Se ha eliminado la norma EN 980 y se ha cambiado a la norma EN ISO 15223-1:2021 en los símbolos. Se ha añadido la información de contacto en caso de acontecimientos adversos. Se ha eliminado el número de referencia 5. Se han añadido advertencias y peligros. Información del CH-REP añadida.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Brugsanvisning

Sur fosfatase-sæt (TRAP) til leukocytter

Procedure nr. 387



Tilsigtet brug

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

Brug af substituerede naphthol-AS-fosfater sammen med diazoniumsalte til påvisning af sur fosfatase i humane leukocytter blev først rapporteret af Goldberg og Barka.¹ Sigma-Aldrich-proceduren til påvisning af dette enzym benytter naphthol-AS-BI-fosfat og nyligt diazoteret Fast Garnet GBC-salt. Sidstnævnte forbindelse blev valgt, fordi den kobler hurtigt ved sur pH og danner meget tungtopløselige farveaflejninger.

De fleste procedurer, inklusive den, der leveres af Sigma-Aldrich, anvender stabile diazoniumsalte. Disse dannes ved at lade en arylamin reagent med natriumnitrit i et surt medium.² Det resulterende diazoniumklorid (normalt ustabil) kan derefter behandles med forbindelser såsom zinkklorid, zinksulfat eller naphthalen-1,6-disulfonat, hvorved der dannes stabile salte. Disse stabilisatorer kan udøve en markant hæmning på visse enzymatiske systemer, hvorimod diazoniumkloriderne er mindre hæmmende.² Af denne grund leverer Sigma-Aldrich nu en stabil opløsning af Fast Garnet GBC-base og natriumnitrit til sur fosfatase-cytokemi. For at forenkle denne metode yderligere er der også inkluderet en stabil vandig opløsning af naphthol-AS-BI-fosfat. Tilgængeligheden af disse stabile opløsninger giver brugerne mulighed for at justere arbejdsreagensvolumenen efter behov, hvilket eliminerer spild.

Ifølge Sigma-Aldrich-proceduren inkuberes blodfilm i en opløsning indeholdende naphthol-AS-BI-fosforsyre og nyligt diazoteret Fast Garnet GBC. Duplikatfilm kan behandles med en opløsning, der indeholder L(+)-tartrat. Naphthol-AS-BI, som frigives ved enzymatisk hydrolyse, kobles øjeblikkeligt med Fast Garnet GBC og danner uopløselige rødbrune farveaflejninger på aktivitetsstederne. Cellen, der indeholder vinsyre-resistent fosfatase, påvirkes ikke af en sådan behandling.

Reagenser

Naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning (kat.nr. 3871-10ML)
Naphthol-AS-BI-fosforsyre, 12,5 mg/ml.

Fast Garnet GBC-baseopløsning (kat.nr. 3872-10ML)
Fast Garnet GBC-base, 7,0 mg/ml, CI 11160, i 0,4 mol/l saltsyre med stabilisator. Fare. Farlig ved indtagelse. Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Kan fremkalde kræft.

Acetatopløsning (kat.nr. 3863-50ML)
Acetatbuffer, 2,5 mol/l, pH 5,2 ±0,1.

Tartratopløsning (kat.nr. 3873-10ML)
L(+)-tartratbuffer, 0,335 mol/l, pH 4,9 ±0,1. Advarsel. Forårsager mild hudirritation.

Natriumnitritopløsning (kat.nr. 914-10ML)
Natriumnitrit, 0,1 mol/l.

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

Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3 (kat.nr. GHS3-50ML)
Hæmatoxylin, certificeret, 6,0 g/l, CI 75290 natriumiodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisatorer. Fare. Farlig ved indtagelse. Forårsager alvorlig øjenskade. Bær beskyttelseshandsker/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Acetone, ACS-reagens
- Formaldehyd, 37 %

Opbevaring og stabilitet

Opbevar hæmatoxylinopløsning ved stuetemperatur (18-26 °C). Skal beskyttes mod lys. Reagensmærkaten er forsynet med udløbsdato.

Opbevar naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning, Fast Garnet GBC-baseopløsning, acetatopløsning, tartratopløsning, natriumnitritopløsning og citratopløsning ved 2-8 °C.

Opbevar fiksativopløsning på køl (2-8 °C). Opvarm til 18-26 °C før brug. Stabil i op til 2 måneder ved tæt tillukket opbevaring i køleskab. Bortskaf fiksativopløsningen, hvis der konstateres fordampning, og tilbered en frisk opløsning.

Forringelse

Naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning og tartratopløsning skal kasseres, hvis der udvikles uklarhed. Citratopløsning er egnet til brug ved fravær af mikrobiel vækst.

Hæmatoxylinopløsning skal kasseres, hvis den bliver brun (overoxideret på grund af luft) eller lilla (tab af surhed).

Forberedelse

Reagenserne leveres klar til brug.

Forbered fiksativopløsningen ved at kombinere 25 ml citratopløsning, 65 ml acetone og 8 ml 37 % formaldehyd. Anbring i en glasflaske, og stram låget godt til.

Forsigtighedsregler

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

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

Procedure

Prøveindsamling

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

Der kan anvendes blod, knoglemarvsfilm, vævsberøringspræparater og cytocentrifugepræparater. Enten EDTA eller heparin vil fungere som antikoagulan. Blod- eller knoglemarvsfilm kan opbevares fikseret ved stuetemperatur (18-26 °C) i flere uger eller ufikseret i flere dage uden nævneværdig ændring i aktivitet.³ Send ikke fuldblod til analyse i andre laboratorier. Send fikserede eller ufikserede objektglas. Objektglassene skal opbevares køligt under transport. Lad film tørre i mindst 1 time før fiksering.

Bemærkninger

Testens ydeevne skal overvåges ved at inkludere blodfilm, der er fremstillet ud fra en rask person.

Procedure

1. Forvarm tilstrækkeligt demineraliseret vand til en dags brug til 37 °C. Kontrollér temperaturen inden brug.
2. Bring fiksativopløsningen til stuetemperatur (18-26 °C). Fikser objektglassene ved at nedsænke dem i fiksativopløsning i 30 sekunder. Skyl grundigt i demineraliseret vand. Lad ikke objektglassene tørre.
3. Tilsæt 0,5 ml Fast Garnet GBC-baseopløsning og 0,5 ml natriumnitritopløsning til hvert af de 2 reagensglas. Bland ved forsigtig inversion i 30 sekunder. Lad stå i 2 minutter.
4. Mærk to 100 ml-bægerglas A og B, og tilsæt følgende, mens der blandes:

	Bægerglas A	Bægerglas B
Demineraliseret vand, der er forvarmet til 37 °C	45 ml	45 ml
Diazoteret Fast Garnet GBC-opløsning (trin 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naphthol-AS-BI-fosfatopløsning	0,5 ml	0,5 ml
Acetatopløsning	2,0 ml	2,0 ml
Tartratopløsning	—	1,0 ml

5. Mærk Coplin-skåle A og B, og overfør opløsningerne fra bægerglassene til passende Coplin-skåle. Opvarm opløsninger i skåle til 37 °C i vandbad. Kontrollér, at temperaturen er på 37 °C, før objektglassene tilføjes.
6. Anbring objektglassene i Coplin-skåle, og inkuber 1 time i et 37 °C vandbad beskyttet mod lys.
7. Efter 1 time skylles objektglassene grundigt i demineraliseret vand, hvorefter de kontrastfarves i 2 minutter i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3.
8. Skyl i flere minutter i basisk postevand for at blåne kernerne.
9. Lufttør og evaluer mikroskopisk. Brug af dækglass frarådes, da farvestoffet falmer med tiden.

Præstationskarakteristika

Resultater

Farvede blodfilm evalueres sædvanligvis subjektivt for tilstedeværelse eller fravær af tartrat-resistent enzym. Ved fravær af vinsyre udviser de fleste leukocytter granulære aktivitetssteder. Når der inkuberes med tartrat, kan en lejlighedsvis granulum observeres i lymphocytter og visse specialiserede makrofager.⁴ I blodudstrygninger er en positiv reaktion angivet ved tilstedeværelsen af mere end to celler med diffus og intens aktivitet, dvs. mere end 40 granula.⁴ For at evaluere Golgi-farvning, der er karakteristisk for thymus-afledte lymfocytter (T-celler), anbefales Sigma-Aldrich-procedure nr. 181.

Acid Phosphatase aktivitet fremstår som lilla til mørkerøde granula i cytoplasmaet i de fleste leukocytter.

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

Analytiske præstationskarakteristika

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

Kat. nr.	Produkt-beskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
3871	Naphthol-AS-BI-fosforsyreopløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3872	Fast Garnet GBC-baseopløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3873	Tartratopløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3863	Acetatopløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
914	Natriumnitritopløsning	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
GHS3	Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3

Advarsler og farer

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

387A:



H290 Kan ætse metaller.

H302 Farlig ved indtagelse.

H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader.

H350 Kan fremkalde kræft.

H373 Kan forårsage organskader (nyrer) ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.

P202 Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.

P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P301 + P312 I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Kontakt GIFTLINJEN/en læge i tilfælde af ubehag.

P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand.

P304 + P340 + P310 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.

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

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

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

Referencer

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

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. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Fjernet reference nummer 5. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet information om repræsentant i Schweiz.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Bruksanvisning

Leukocytsyrafosfatas-sats (TRAP)

Förfarande nr. 387



Avsedd användning

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

Användning av substituerade naftol-AS-fosfater i kombination med diazoniumsalter för detektion av surt fosfatas i leukocyter från människa rapporterades först av Goldberg och Barka.¹ Sigma-Aldrich-förfarandet för att påvisa detta enzym använder naftol-AS-BI-fosfat och nyligen diazotiserat Fast Garnet GBC-salt. Den sistnämnda föreningen valdes eftersom den kopplas snabbt vid surt pH och bildar mycket olösliga färgavlagringar.

De flesta förfaranden, inklusive det som tillhandahålls av Sigma-Aldrich, använder stabila diazoniumsalter. Dessa bildas genom att reagera en arylamin med natriumnitrit i ett surt medium.² Den resulterande diazoniumkloriden (vanligtvis instabil) kan sedan behandlas med föreningar som zinkklorid, zinksulfat eller naftalen-1,6- disulfonat, vilket bildar stabila salter. Dessa stabilisatorer kan utöva markant hämning på vissa enzymssystem, medan diazoniumkloriderna är mindre hämmande.² Av denna anledning tillhandahåller Sigma-Aldrich nu en stabil lösning av Fast Garnet GBC-bas och natriumnitrit för surt fosfatascytokemi. För att ytterligare förenkla denna metod ingår också en stabil vattenlösning av naftol-AS-BI-fosfat. Tillgängligheten av dessa stabila lösningar gör att användare kan justera de verksamma reagensvolymerna efter behov, vilket eliminerar spill.

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

Reagenser

Naftol-AS-BI-fosforsyralslösning (kat.-nr. 3871-10ML)
Naftol-AS-BI-fosforsyra, 12,5 mg/ml

Fast Garnet GBC-baslösning (kat.-nr. 3872-10ML)
Fast Garnet GBC-bas, 7,0 mg/ml, CI 11160, i 0,4 mol/l saltsyra med stabiliseringsmedel. Fara. Skadligt vid förtäring. Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador. Kan orsaka en allergisk hudreaktion. Kan orsaka cancer.

Acetatlösning (kat.-nr. 3863-50ML)
Acetatbuffert, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Tartratlösning (kat.-nr. 3873-10ML)
L(+)-tartratbuffert, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Varning. Orsakar lindrig hudirritation.

Natriumnitritlösning (kat.-nr. 914-10ML)
Natriumnitrit, 0,1 mol/l

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

Hematoxylinlösning, Gill nr. 3 (kat.-nr. GHS3-50ML)
Hematoxylin, certifierad, 6,0 g/l, C.I. 75290, natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l eller stabiliseringsmedel. Fara. Skadligt vid förtäring. Orsakar allvarliga ögonskador. Använd skyddshandskar/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyd 37 %

Förvaring och hållbarhet

Förvara hematoxylinlösningen i rumstemperatur (18–26 °C). Skydda från ljus. Utgångsdatum finns på reagensmärkningen.

Förvara naftol-AS-BI-fosforsyralslösning, Fast Garnet GBC-baslösning, acetatlösning, tartratlösning, natriumnitritlösning och citratlösning vid 2–8 °C.

Förvara fixeringslösning i kylskåp (2–8 °C). Värm till 18–26 °C före användning. Stabil i upp till 2 månader om den förvaras med tätt lock i kylskåp. Kassera fixeringslösning om avdunstning noteras och förbered färsk.

Försämring

Naftol-AS-BI-fosforsyralslösning, tartratlösning bör kasseras om grumlighet utvecklas.

Citratlösning är lämplig för användning i frånvaro av mikrobiell tillväxt.

Hematoxylinlösningen ska kasseras om den blir brun (överoxiderad av luft) eller lila (minskad surhet).

Beredning

Reagenser tillhandahålls redo att användas.

Förbered fixeringslösning genom att kombinera 25 ml citratlösning, 65 ml aceton och 8 ml formaldehyd (37 %). Häll i glasflaska och tillslut tätt.

Försiktighetsåtgärder

Dessa medicintekniska produkter för in vitro-diagnostik är avsedda att användas i klinisk laboriemiljö. 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.

Blod, benmärgsfilmer, beröringspreparat för vävnad och cytocentrifugpreparat kan användas. Antingen EDTA eller heparin fungerar som antikoagulantia. Blod- eller benmärgsfilmer kan förvaras fixerade i rumstemperatur (18–26 °C) i flera veckor eller ofixerade i flera dagar utan nämnvärd förändring i aktivitet.³ Skicka inte helblod för analys vid andra laboratorier. Skicka fixerade eller ofixerade objektglas. Objektglaset ska förvaras svalt under transporten. Låt filmerna torka minst 1 timme före fixering.

Anmärkningar

Testprestanda bör övervakas genom att inkludera blodfilmer framställda från en frisk individ.

Förfarande

1. Förvärm tillräckligt med avjoniserat vatten för en dags användning till 37 °C. Kontrollera temperaturen före användning.
2. Låt fixeringslösningen få rumstemperatur (18–26 °C). Fixera objektglaset genom att doppa i fixeringslösning i 30 sekunder. Skölj ordentligt i avjoniserat vatten. Låt inte objektglaset torka.
3. Till vart och ett av två provrör tillsätt 0,5 ml Fast Garnet GBC-baslösning och 0,5 ml natriumnitritlösning. Blanda genom att vända försiktigt i 30 sekunder. Låt stå i 2 minuter.
4. Märk två 100 ml-bägare A och B och tillsätt följande under blandning:

	Bägare A	Bägare B
Avjoniserat vatten förvämt till 37 °C	45 ml	45 ml
Diazotiserad Fast Garnet GBC-lösning (steg 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naftol-AS-BI-fosfatlösning	0,5 ml	0,5 ml
Acetatlösning	2,0 ml	2,0 ml
Tartratlösning	—	1,0 ml

5. Märk Coplin-burkarna A och B och överför lösningar från bägare till lämplig Coplin-burk. Värm lösningar i burkar till 37 °C i vattenbad. Kontrollera att temperaturen är 37 °C innan du lägger till objektglas.
6. Lägg till objektglas till Coplin-burkar och inkubera i 1 timme i ett 37 °C vattenbad skyddat från ljus.
7. Skölj objektglaset noggrant i avjoniserat vatten i 1 timme, motfärga sedan två minuter i hematoxylinlösning, Gill nr. 3.
8. Skölj flera minuter i alkaliskt kranvatten till blå kärnor.
9. Lufttorka och utvärdera mikroskopiskt. Täckglas rekommenderas inte eftersom färgen bleknar med tiden.

Prestandaegenskaper

Resultat

Färgade blodutstryk utvärderas subjektivt med avseende på förekomst eller frånvaro av tartrat-resistent enzym. I frånvaro av vinsyra uppvisar de flesta leukocyter granulära aktivitetsställen. Vid inkubation med tartrat kan ett och annat granulot observeras i lymfocyter och vissa specialiserade makrofager.⁴ I blodutstryk betecknas en positiv reaktion med närvaro av mer än två celler med diffus och intensiv aktivitet, dvs. mer än 40 granulater.⁴ För att utvärdera Golgi-färgning, som är karakteristisk för tymuslymfocyter (T-celler), rekommenderas Sigma-Aldrichs förfarande nr 181.

Surt fosfatasaktivitet uppträder som lila till mörkröda granulater i cytoplasman hos de flesta leukocyter.

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

Analytiska prestandaegenskaper

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

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3871	Naftol-AS-BI-fosforsyralslösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3872	Fast Garnet GBC-baslösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3873	Tartratlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3863	Acetatlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
914	Natriumnitritlösning	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
GHS3	Hematoxylinlösning, Gill nr. 3	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Varningar och faror

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

387A:



- H290 Kan vara frätande på metaller.
- H302 Skadligt vid förtäring.
- H314 Orsakar allvarliga brännskador på huden samt ögonskador.
- H350 Kan orsaka cancer.
- H373 Kan orsaka skador på organ (njurar) genom långvarig eller upprepade exponering vid förtäring.
- P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förståtts.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P301 + P312 VID FÖRTÄRING: Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt.
- P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten.
- P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas utan problem. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

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

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

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

Referenser

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, sid. 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, sid. 28, 119

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://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". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontaktuppgifterna. Tagit bort anvisningen om att CLSI ska följas vid provtagning. Tagit bort EN 980 och ändrat till EN ISO 15223-1:2021 för symbolerna. Lagt till kontaktuppgifter för negativa händelser. Referens nummer 5 togs bort. Lagt till varningar och faror. Lagt till information om representant i Schweiz.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Instruções de utilização

Kit de fosfatase ácida de leucócitos (TRAP)

Procedimento N.º 387



Utilização prevista

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

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

A maioria dos procedimentos, incluindo o fornecido pela Sigma-Aldrich, emprega sais de diazónio estáveis. Estes são formados pela reação de uma arilamina com nitrito de sódio num meio ácido.² O cloreto de diazónio resultante (geralmente instável) pode ser então tratado com compostos, tais como cloreto de zinco, sulfato de zinco ou naftaleno-1,6-dissulfonato, formando sais estáveis. Estes estabilizadores podem exercer uma inibição acentuada sobre alguns sistemas enzimáticos, ao passo que os cloretos de diazónio são menos inibitórios.² Por este motivo, a Sigma-Aldrich fornece agora uma solução estável de Base granada rápida GBC e Nitrito de sódio para citoquímica de fosfatase ácida. Para simplificar ainda mais este método, está também incluída uma solução aquosa estável de fosfato de naftol AS-BI. A disponibilidade destas soluções estáveis permite aos utilizadores ajustar os volumes de reagentes de trabalho de acordo com as necessidades, eliminando desperdícios.

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

Reagentes

Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI (N.º de cat. 3871-10ML)

Ácido fosfórico de naftol AS-BI, 12,5 mg/ml

Solução de Base granada rápida GBC (N.º de cat. 3872-10ML)

Base granada rápida GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, em 0,4 mol/l de ácido clorídrico com estabilizador. Perigo. Nocivo por ingestão. Provoca queimaduras cutâneas graves e lesões oculares. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Pode causar cancro.

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

Tampão de acetato, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Solução de Tartarato (N.º de cat. 3873-10ML)

Tampão de L(+) tartarato, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Aviso. Provoca irritação cutânea ligeira.

Solução de Nitrito de sódio (N.º de cat. 914-10ML)

Nitrito de sódio, 0,1 mol/l

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, pH 3,6 ± 0,1

Solução de Hematoxilina, Gill N.º 3 (N.º de cat. GHS3-50ML)

Hematoxilina, certificada, 6,0 g/l, C.I. 75290, iodato de sódio, 0,6 g/l, sulfato de alumínio, 52,8 g/l e estabilizadores. Perigo. Nocivo por ingestão. Provoca lesões oculares graves. Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial.

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Acetona, Reagente ACS
- Formaldeído, 37%

Conservação e estabilidade

Conservar a Solução de Hematoxilina à temperatura ambiente (18-26 °C). Proteger da luz. A etiqueta do reagente tem a data de validade.

Conservar a Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI, Solução de Base granada rápida GBC, Solução de Acetato, Solução de Tartarato, Solução de Nitrito de sódio e Solução de Citrato a uma temperatura de 2-8 °C.

Conservar a Solução fixadora refrigerada (2-8 °C). Aquecer até 18-26 °C antes de utilizar. Estável durante até 2 meses. se conservado firmemente tapado no frigorífico. Eliminar a Solução fixadora se observar a evaporação e preparar fresco.

Deterioração

A Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI e a Solução de Tartarato devem ser eliminadas se surgir turbidez.

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

A Solução de Hematoxilina deve ser eliminada se a solução ficar castanha (excesso de oxidação devido ao ar) ou roxa (perda de acidez).

Preparação

Os reagentes são fornecidos prontos a utilizar.

Preparar a Solução fixadora combinando 25 ml de Solução de Citrato, 65 ml de Acetona e 8 ml de Formaldeído a 37%. Colocar em frasco de vidro e tapar firmemente.

Precauções

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

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

Procedimento

Colheita de amostras

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

É possível utilizar sangue, películas de medula óssea, preparações por contacto de tecido e citocentrífuga. A EDTA ou a heparina atuarão como anticoagulantes. As películas de sangue ou medula óssea podem ser conservadas fixadas à temperatura ambiente (18-26 °C) durante várias semanas ou não fixadas durante vários dias sem alteração apreciável da atividade.³ Não expedir sangue total para ensaio noutros laboratórios. Enviar lâminas fixadas ou não fixadas. As lâminas devem ser mantidos refrigeradas em trânsito. Permitir que as películas sequem durante, pelo menos, 1 hora antes da fixação.

Notas

O desempenho do teste deve ser monitorizado incluindo películas de sangue preparadas a partir de um indivíduo saudável.

Procedimento

1. Pré-aquecer, até uma temperatura de 37 °C, água desionizada suficiente para utilizar durante um dia. Verificar a temperatura antes de usar.
2. Levantar a Solução fixadora à temperatura ambiente (18-26 °C). Fixar as lâminas submergindo-as em Solução fixadora durante 30 segundos. Enxaguar cuidadosamente com água desionizada. Não permitir que as lâminas sequem.
3. A cada um dos 2 tubos de ensaio, adicionar 0,5 ml de Solução de Base granada rápida GBC e 0,5 ml de Solução de Nitrito de sódio. Misturar por inversão suave durante 30 segundos. Deixar repousar durante 2 minutos.
4. Rotular dois copos A e B de 100 ml e adicionar o seguinte enquanto mistura:

	Copo A	Copo B
Água desionizada, pré-aquecida até 37 °C	45 ml	45 ml
Solução de Granada rápida GBC diazotizada (Passo 3)	1,0 ml	1,0 ml
Solução de Fosfato de naftol AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Solução de Acetato	2,0 ml	2,0 ml
Solução de Tartarato	—	1,0 ml

5. Rotular jarras de Coplin A e B e transferir soluções de copos para jarras de Coplin apropriadas. Num banho-maria, aquecer as soluções em jarras a uma temperatura de 37 °C. Verificar se a temperatura está a 37 °C antes de adicionar as lâminas.
6. Adicionar as lâminas a jarras de Coplin e incubar durante 1 hora num banho-maria a 37 °C protegidas da luz.
7. Após 1 hora, enxaguar cuidadosamente as lâminas com água desionizada e, em seguida, efetuar a contracoloração durante 2 minutos com Solução de Hematoxilina, Gill N.º 3.
8. Enxaguar durante vários minutos em água da torneira alcalina até aos núcleos azuis.
9. Deixar secar ao ar e avaliar microscopicamente. Não se recomenda a utilização de lamelas, visto que o corante se desbota ao longo do tempo.

Características do desempenho

Resultados

Normalmente, as películas de sangue coradas são avaliadas subjetivamente quanto à presença ou ausência de enzimas resistentes a tartarato. Na ausência de ácido tartárico, a maioria dos leucócitos demonstra locais de atividade granulares. Quando incubado com tartarato, poderá observar um grânulo ocasional em linfócitos e alguns macrófagos especializados.⁴ Nos esfregaços de sangue, uma reação positiva é denotada pela presença de mais de duas células com atividade difusa e intensa, ou seja, mais de 40 grânulos.⁴ Para avaliar a coloração de Golgi, característica dos linfócitos derivados do timo (células T), recomenda-se o Procedimento N.º 181 da Sigma-Aldrich.

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

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

Características do desempenho analítico

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

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
3871	Solução de Ácido fosfórico de naftol AS-BI	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3872	Solução de Base granada rápida GBC	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3873	Solução de Tartarato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3863	Solução de Acetato	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
914	Solução de Nitrito 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
GHS3	Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

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

387A:



- H290 Pode ser corrosivo para os metais.
- H302 Nocivo por ingestão.
- H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- H350 Pode provocar cancro.
- H373 Pode afetar os órgãos (Rins) após exposição prolongada ou repetida em caso de ingestão.
- P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
- P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P301 + P312 EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte 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 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

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

Definições dos símbolos

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

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

Referências

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
- Janckila A, Li CY et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Informações de contacto

Para encomendar, visite o nosso site em [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site [SigmaAldrich.com/techservice](https://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. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Remoção da referência número 5. Adição de Advertências e Perigos. Adicionadas informações CH-REP.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Οδηγίες χρήσης

Κιτ όξινης φωσφατάσης λευκοκυττάρων (TRAP)

Διαδικασία αρ. 387



Προοριζόμενη χρήση

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

Η χρήση υποκατεστημένων φωσφορικών naphthol AS σε συνδυασμό με άλατα διαζωνίου για την ανίχνευση της όξινης φωσφατάσης σε ανθρώπινα λευκοκύτταρα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Goldberg και Barka.¹ Η διαδικασία της Sigma-Aldrich για την αναγνώριση αυτού του ενζύμου χρησιμοποιεί naphthol AS-BI phosphate και πρόσφατα διαζωτωμένο άλας fast garnet GBC. Αυτή η ένωση επιλέχθηκε επειδή πραγματοποιεί γρήγορα σύζευξη σε όξινο pH, σχηματίζοντας εξαιρετικά αδιάλυτες εναποθέσεις χρωστικής.

Οι περισσότερες διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένης αυτής που παρέχεται από τη Sigma-Aldrich, χρησιμοποιούν σταθερά άλατα διαζωνίου. Αυτά σχηματίζονται με αντίδραση μιας αρυλαμίνης με νιτρώδες νάτριο σε ένα όξινο μέσο.² Το προκύπτον χλωριούχο διαζώνιο (συνήθως ασταθές) μπορεί στη συνέχεια να υποβληθεί σε επεξεργασία με ενώσεις όπως χλωριούχος ψευδάργυρος, θειικός ψευδάργυρος ή ναφθαλενο-1,6-δισουλφονικό, σχηματίζοντας σταθερά άλατα. Αυτοί οι σταθεροποιητές ενδέχεται να ασκούν έντονη ανασταλτική δράση σε ορισμένα ενζυματικά συστήματα, ενώ τα χλωριούχα διαζώνια είναι λιγότερο ανασταλτικά.² Για αυτόν τον λόγο, η Sigma-Aldrich παρέχει πλέον ένα σταθερό διάλυμα βάσης fast garnet GBC και νιτρώδους νατρίου για την κυτταροχημεία της όξινης φωσφατάσης. Προκειμένου να απλοποιηθεί περαιτέρω αυτή η μέθοδος, περιλαμβάνεται επίσης ένα σταθερό υδατικό διάλυμα naphthol AS-BI phosphate. Η διαθεσιμότητα αυτών των σταθερών διαλυμάτων επιτρέπει στους χρήστες να προσαρμόζουν τους όγκους των αντιδραστηρίων εργασίας ανάλογα με τις ανάγκες, εξελίχοντας τα απόβλητα.

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

Αντιδραστήρια

Διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος (Αρ. καταλόγου 3871-10ML)

Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος, 12,5 mg/mL

Διάλυμα βάσης Fast Garnet GBC (Αρ. καταλόγου 3872-10ML)

Βάση Fast garnet GBC, 7,0 mg/mL, C.I. 11160, σε 0,4 mol/L υδροχλωρικό οξύ με σταθεροποιητή. Κίνδυνος. Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

Οξικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 3863-50ML)

Οξικό ρυθμιστικό διάλυμα, 2,5 mol/L, pH 5,2 ± 0,1

Τρυγικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 3873-10ML)

Ρυθμιστικό διάλυμα L(+) τρυγικού οξέος, 0,335 mol/L, pH 4,9 ± 0,1. Προειδοποίηση. Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος.

Διάλυμα νιτρώδους νατρίου (Αρ. καταλόγου 914-10ML)

Νιτρώδες νάτριο, 0,1 mol/L

Κιτρικό διάλυμα (Αρ. καταλόγου 915-50 ML)

Κιτρικό οξύ, 18 mmol/L, κιτρικό νάτριο, 9 mmol/L, χλωριούχο νάτριο, 12 mmol/L, και επιφανειοδραστικό, pH 3,6 ± 0,1

Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 (Αρ. καταλόγου GHS3-50ML)

Αιματοξυλίνη, πιστοποιημένη, 6,0 g/L, C.I. 75290, ιωδικό νάτριο, 0,6 g/L, θειικό αργίλιο, 52,8 g/L και σταθεροποιητές. Κίνδυνος. Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Ακετόνη, αντιδραστήριο ACS
- Φορμαλδεΐδη, 37%

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα αιματοξυλίνης σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Προστατεύστε από το φως. Η επικέτα του αντιδραστηρίου αναφέρει την ημερομηνία λήξης.

Φυλάσσετε το διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος, το διάλυμα βάσης Fast Garnet GBC, το οξικό διάλυμα, το τρυγικό διάλυμα, το διάλυμα νιτρώδους νατρίου και το κιτρικό διάλυμα στους 2–8 °C.

Φυλάσσετε το μονιμοποιητικό διάλυμα στο ψυγείο (2–8°C). Θερμάνετε στους 18–26 °C πριν από τη χρήση. Σταθερό για έως 2 μήνες, εάν φυλαχθεί σε ψυγείο με το καπάκι ερμητικά κλειστό. Απορρίψτε το μονιμοποιητικό διάλυμα εάν παρατηρηθεί εξάτμιση και παρασκευάστε φρέσκο.

Αλλοίωση

Το διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος και το τρυγικό διάλυμα θα πρέπει να απορρίπτονται εάν αναπτυχθεί θερμοκρασία.

Το κιτρικό διάλυμα είναι κατάλληλο για χρήση απουσία μικροβιακής ανάπτυξης.

Το διάλυμα αιματοξυλίνης θα πρέπει να απορρίπτεται γίνει καφέ (υπεροξειδωσή από τον αέρα) ή μοβ (απόλεια οξύτητας).

Παρασκευή

Τα αντιδραστήρια παρέχονται έτοιμα για χρήση.

Παρασκευάστε μονιμοποιητικό διάλυμα, συνδυάζοντας 25 mL κιτρικού διαλύματος, 65 mL ακετόνης και 8 mL φορμαλδεΐδης 37%. Τοποθετήστε σε ψυδλίνη φιάλη και κλείστε ερμητικά το καπάκι.

Προφυλάξεις

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

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνήθειες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τήνώντας 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.

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φιλμ αίματος, μυελού των οστών, παρασκευάσματα ιστών αποτυπωματικής κυτταρολογίας και παρασκευάσματα κυτταρο-φυγοκέντρωσης. Είτε το EDTA είτε η ηπαρίνη θα χρησιμεύσουν ως αντιπηκτικά. Τα φιλμ αίματος ή μυελού των οστών μπορούν να φυλαχθούν μονιμοποιημένα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C) για αρκετές εβδομάδες ή μη μονιμοποιημένα για αρκετές ημέρες χωρίς αισθητή αλλαγή στη δραστηριότητα.³ Μην αποστέλλετε πλήρες αίμα για ανάλυση σε άλλα εργαστήρια. Αποστέλλετε μονιμοποιημένες ή μη μονιμοποιημένες αντικειμενοφόρους. Οι αντικειμενοφόροι πρέπει να διατηρούνται δροσερές κατά τη μεταφορά. Αφήστε τα φιλμ να στεγνώσουν τουλάχιστον 1 ώρα πριν από τη μονιμοποίηση.

Σημειώσεις

Η απόδοση της δοκιμίας θα πρέπει να ελεγχθεί συμπεριλαμβάνοντας φιλμ αίματος που έχει παρασκευαστεί από ένα υγιές άτομο.

Διαδικασία

1. Προθερμάνετε αρκετό αποιονισμένο νερό για χρήση μίας ημέρας στους 37 °C. Ελέγχετε τη θερμοκρασία πριν από τη χρήση.
2. Φέρτε το μονιμοποιητικό διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους μεμβάνισή σε μονιμοποιητικό διάλυμα για 30 δευτερόλεπτα. Ξεπλύνετε καλά σε αποιονισμένο νερό: Μην αφήνετε τις αντικειμενοφόρους να στεγνώσουν.
3. Σε καθένα από τα 2 δοκιμαστικά σωληνάρια, προσθέστε 0,5 mL διαλύματος βάσης Fast Garnet GBC και 0,5 mL διαλύματος νιτρώδους νατρίου. Αναμείξτε με ήπια αναστροφή για 30 δευτερόλεπτα. Αφήστε το μείγμα να παραμείνει σε ηρεμία για 2 λεπτά.
4. Επιστημάνετε Α και Β δύο ποτήρια των 100 mL και προσθέστε τα ακόλουθα ενώ αναμειγνύετε:

	Ποτήρι Α	Ποτήρι Β
Αποιονισμένο νερό, προθερμασμένο στους 37 °C	45 mL	45 mL
Διαζωτωμένο διάλυμα Fast Garnet GBC (Βήμα 3)	1,0 mL	1,0 mL
Διάλυμα Naphthol AS-BI Phosphate	0,5 mL	0,5 mL
Οξικό διάλυμα	2,0 mL	2,0 mL
Τρυγικό διάλυμα	—	1,0 mL

5. Επιστημάνετε τα δοχεία Corlin ως Α και Β και μεταφέρετε τα διαλύματα από τα ποτήρια στο κατάλληλο δοχείο Corlin. Θερμάνετε τα διαλύματα στα δοχεία στους 37 °C σε υδατόλουτρο. Ελέγξτε ότι η θερμοκρασία είναι στους 37 °C προτού προσθέσετε αντικειμενοφόρους.
6. Προσθέστε αντικειμενοφόρους στα δοχεία Corlin και επώαστε για 1 ώρα στους 37 °C σε υδατόλουτρο προστατευμένο από το φως.
7. Μετά από 1 ώρα, ξεπλύνετε καλά τις αντικειμενοφόρους σε αποιονισμένο νερό και, στη συνέχεια, προχωρήστε σε αντίχρωση σε διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 για 2 λεπτά.
8. Ξεπλύνετε για αρκετά λεπτά σε αλκαλικό νερό της βρύσης μέχρι να γίνουν μπλε οι πυρήνες.
9. Στεγνώστε στον αέρα και αξιολογήστε μικροσκοπικά. Δεν συνιστάται η κάλυψη με καλυπτρίδα, καθώς η χρωστική ξεθωριάζει με τον καιρό.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Αποτελέσματα

Τα χρωματισμένα φιλμ αίματος συνήθως αξιολογούνται υποκειμενικά ως προς την παρουσία ή την απουσία ενζύμου ανθεκτικού στο τρυγικό οξύ. Απουσία τρυγικού οξέος, τα περισσότερα λευκοκύτταρα εμφανίζουν κοκκώδη σημεία δραστηριότητας. Όταν επωάζονται με τρυγικό διάλυμα, μπορεί να παρατηρηθεί περιστασιακό κοκκίο σε λεμφοκύτταρα και ορισμένα εξειδικευμένα μακροφάγα.⁴ Σε επιχρίσματα αίματος, μια θετική αντίδραση υποδηλώνεται από την παρουσία περισσότερων από δύο κυττάρων με διάχυτη και έντονη δραστηριότητα, δηλαδή περισσότερα από 40 κοκκία.⁴ Για την αξιολόγηση της χρώσης Golgi, χαρακτηριστικά των λεμφοκυττάρων που προέρχονται από τον θύμο (T-κύτταρα), συνιστάται η διαδικασία Sigma-Aldrich αρ. 181.

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

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

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

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

Αρ. κατα-λόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
3871	Διάλυμα Naphthol AS-BI φωσφορικού οξέος	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3872	Διάλυμα βάσης Fast Garnet GBC	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3873	Τρυγικό διάλυμα	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3863	Οξικό διάλυμα	Σημεία δραστηριότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
914	Διάλυμα 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
GHS3	Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

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

387A:



- H290 Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.
- H302 Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.
- H373 Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα (νεφροί) ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.
- P202 Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.
- P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P301 + P312 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό, αν αισθανθείτε αδιαθεσία.
- P303 + P361 + P353 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό.
- P304 + P340 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.
- P305 + P351 + P338 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε.

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

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

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

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Jancikila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Πληροφορίες επικοινωνίας

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

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Avaθ. 3.0	2014	
Avaθ. 4.0	2016	
Avaθ. 5.0	2023	Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Αφαιρέθηκε η βιβλιογραφική αναφορά 5. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν πληροφορίες εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου για την Ελβετία (CH-REP).

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Használati utasítás

Leukocita savas foszfataz (TRAP) készlet

387. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

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

A szubsztituált naftol-AS-foszfátok diazóniumsókkal együtt, a savas foszfataz humán leukocitákban történő kimutatására szolgáló alkalmazásáról elsőként Goldberg és Barka számoltak be.¹ A Sigma-Aldrich ezen enzim kimutatására szolgáló eljárása naftol-AS-BI-foszfátot és frissen diazotált Fast Garnet GBC sóc alkalmaz. Ezen utóbbit vegyületet azért választották, mert savas kémhatás esetén gyorsan kötődik, és kifejezetten oldhatatlan festéklarakódást képez.

A legtöbb eljárás, beleértve a Sigma-Aldrich által biztosított eljárást is, stabil diazóniumsókat alkalmaz. Ezeket egy arilamin vegyület és a nátrium-nitrit savas közegben történő reakciójával hozzák létre.² A keletkező diazónium-klorid (általában instabil) ezután olyan vegyületekkel kezelhető, mint a cink-klorid, a cink-szulfát vagy a naftalén-1,6-diszulfonát, így stabil sók képződnek. Ezek a stabilizátorok jelentős gátlást fejtenek ki egyes enzimrendszerekre, míg a diazónium-kloridok kevésbé gátló hatásúak.² Ezért a Sigma-Aldrich a Fast Garnet GBC bázis és nátrium-nitrit stabil oldatát biztosítja a savas foszfataz kimutatását célzó citokémiai vizsgálatokhoz. A módszer további egyszerűsítése érdekében a rendszer tartalmaz egy stabil, naftol-AS-BI-foszfátot tartalmazó vizes oldatot is. Ezen stabil oldatok elérhetősége lehetővé teszi a felhasználók számára, hogy a munkareagens mennyiségét az igényeknek megfelelően állítsák be, így csökkentve a hulladékmennyiséget.

A Sigma-Aldrich eljárása alapján a vérkeneteket naftol-AS-BI-foszforsavat és frissen diazotált Fast Garnet GBC-t tartalmazó oldatban inkubálják. A két példányban készült kenetek L(+)-tartarátot tartalmazó oldattal kezelhetők. Az enzimatis hidrolízis során felszabaduló naftol-AS-BI azonnal a Fast Garnet GBC-hez kötődik, és oldhatatlan barna festéklarakódásokat képez az aktivitás helyén. A borkósavra érzékeny savas foszfatazt tartalmazó sejtekben nem tapasztalható aktivitás. Ez a kezelés nem érinti a borkósavrezisztens foszfatazt tartalmazó mononukleáris sejteket.

Reagensek

Naftol-AS-BI-foszforsav oldat (kat. sz.: 3871-10ML)
Naftol-AS-BI-foszforsav, 12,5 mg/ml

Fast Garnet GBC bázis oldata (kat. sz.: 3872-10ML)
Fast Garnet GBC bázis, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, 0,4 mol/l sósavban, stabilizálószerrel. Veszély. Lenyelve ártalmas. Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. Allergiás bőrreakciót válthat ki. Rákot okozhat.

Acetátoldat (kat. sz.: 3863-50ML)
Acetátpuffer, 2,5 mol/l, pH-érték: 5,2 ± 0,1

Tartarátoldat (kat. sz.: 3873-10ML)
L(+)-tartarát puffer, 0,335 mol/l, pH-érték: 4,9 ± 0,1. Figyelmeztetés. Enyhén bőrirritáló hatású.

Nátrium-nitrit oldat (kat. sz.: 914-10ML)
Nátrium-nitrit, 0,1 mol/l.

Citrátoldat (kat. sz.: 915-50ML)
Citromsav, 18 mmol/l; nátrium-citrát, 9 mmol/l; nátrium-klorid, 12 mmol/l és felületaktív anyag, pH-érték: 3,6 ± 0,1

Hematoxilinololdat, Gill III (kat. sz.: GHS3-50ML)
Tanúsított hematoxilín, 6,0 g/l, C.I. 75290; nátrium-jodát, 0,6 g/l; alumínium-szulfát, 52,8 g/l és stabilizálószer. Veszély. Lenyelve ártalmas. Súlyos szemkárosodást okoz. Védőkesztyű/ szemvédő/arcvédő használata kötelező.

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Aceton, ACS-reagensminőség
- Formaldehid, 37%

Tárolás és stabilitás

A hematoxilinolddat szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. Fénytől védve tárolandó. A lejárati idő a reagenscímken szerepel.

A naftol-AS-BI-foszforsav oldatot, a Fast Garnet GBC bázis oldatot, az acetátoldatot, a tartarátoldatot, a nátrium-nitrit oldatot és a citrátoldatot tárolja 2–8 °C-on.

A fixáló hűtve tárolandó (2–8 °C). Használat előtt melegítse 18–26 °C-ra. Hűtőszekrényben, szorosan lezárva tárolva 2 hónapig stabil. Ha elpárolgást észlel, dobja ki a fixálót, és készítsen frisse.

Bomlás

Ha zavarosság alakul ki bennük, a naftol-AS-BI-foszforsav oldatot és a tartarátoldatot ki kell dobni.

A citrátoldat mikrobiális növekedés hiányában használható.

Dobja ki a hematoxilinolddat, ha az oldat megbarnul (túloxidálódott a levegőn) vagy lilává válik (savasság elvesztése).

Előkészítés

A reagensek használatra készek.

A fixáló elkészítéséhez 25 ml citrátoldathoz adjon 65 ml acetont és 8 ml 37%-os formaldehidet. Tegye üvegtartályba, és szorosan zárja le kupakkal.

Óvintézkedések

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

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

Eljárás

Mintavétel

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

Vér-, csontvelőkenetek, szövetlenyomat-preparátumok és sejtcentrifugálással nyert minták használandók. Antikoagulánsként EDTA vagy heparin alkalmazható. A vér- vagy csontvelőkenetek fixálva szobahőmérsékleten (18–26 °C) több hétig, vagy fixálás nélkül több napig tárolhatók észrevehető aktivitásváltozás nélkül.³ Ne szállítson teljes vért más laboratóriumokba vizsgálatra. Fixált vagy nem fixált tárgylemezeket is küldhet. A tárgylemezeket szállítás közben hidegen kell tartani. A keneteket a fixálás előtt legalább 1 óráig hagyja száradni.

Megjegyzések

A teszt teljesítményét egészséges személytől származó vérkenet segítségével kell nyomon követni.

Eljárás

- Melegítsen elő egy napra elegendő mennyiségű ioncserélt vizet 37 °C-ra. Használat előtt ellenőrizze a hőmérsékletet.
- Melegítse a fixálót szoba-hőmérsékletre (18–26 °C). Fixálja a tárgylemezeket 30 másodpercig a fixálóba merítve. Végezzen alapos öblítést ioncserélt vízzel: Ne hagyja, hogy a lemezek megszáradjanak.
- A 2 kémcső mindegyikéhez adjon 0,5 ml Fast Garnet GBC bázikus oldatot és 0,5 ml nátrium-nitrit oldatot. Keverje 30 másodpercig finoman fel-le forgatva. Hagyja állni 2 percig.
- Címkezzon fel két 100 ml-es A és B főzőpoharat, és keverés közben adja hozzá a következőket:

	A főzőpohár	B főzőpohár
37 °C-ra előmelegített ioncserélt víz	45 ml	45 ml
Diazotált Fast Garnet GBC oldat (3. lépés)	1,0 ml	1,0 ml
Naftol-AS-BI-foszfát oldat	0,5 ml	0,5 ml
Acetátoldat	2,0 ml	2,0 ml
Tartarátoldat	–	1,0 ml

- Címkezzon fel egy A és B küvétát, és helyezze át az oldatokat a főzőpoharakból a megfelelő küvétákba. Melegítse az oldatokat az edényekben 37 °C-ra vízfürdőben. A tárgylemezek hozzáadása előtt ellenőrizze, hogy a hőmérséklet 37 °C legyen.
- Helyezze a tárgylemezeket a küvétákba, és inkubálja őket 1 órán keresztül 37 °C-os, fénytől védett vízfürdőben.
- 1 óra elteltével alaposan öblítse le a lemezeket ioncserélt vízzel, majd végezzen ellenfestést 2 percig hematoxilinolddalban (Gill III).
- Öblítse őket néhány percig lúgos csapvízzel, hogy a sejtmagok kék színűvé váljanak.
- Hagyja őket levegőn megszáradni, majd végezzen mikroszkópos értékelést. Fedőlemez használata nem ajánlott, mivel a festék idővel elhalványul.

Teljesítményjellemzők

Eredmények

A festett vérkeneteket általában szubjektíven értékelik a tartarátrezisztens enzim jelenléte vagy hiánya szempontjából. Borkósav hiányában a legtöbb leukocita esetén szemcsés aktivitási helyek láthatók. Tartaráttal inkubálva alkalmanként szemcsészettség figyelhető meg a limfocitákban és néhány specializált makrofágban.⁴ A vérkenetben pozitív reakciót jelent a több mint két, diffúz és intenzív aktivitást mutató, azaz több mint 40 szemcsét tartalmazó sejt jelenléte.⁴ A csecsemőmirigy-eredetű limfocitákra (T-sejtek) jellemző Golgi-festés értékeléséhez a Sigma-Aldrich 181-es számú eljárása ajánlott.

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

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

Analitikai teljesítményjellemzők

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

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specifitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specifitás	Tesztek közötti érzékenység
3871	Naftol-AS-BI-foszforsav oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3872	Fast Garnet GBC bázis oldata	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3873	Tartarátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3863	Acetátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
914	Nátrium-nitrit oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
915	Citrátoldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3	Hematoxilinolddat, Gill III	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3

Figyelmeztetések és veszélyek

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

387A:



- H290 Fémekre korrozív hatású lehet.
- H302 Lenyelve ártalmas.
- H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz.
- H350 Rákot okozhat.
- H373 Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket (vese).
- P202 Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
- P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
- P301 + P312 LENYELÉS ESETÉN: Rosszullét esetén 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 + P310 BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.
- P305 + P351 + P338 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

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

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

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

Hivatkozások

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Elérhetőségek

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

Átdolgozási előzmények

Rev.: 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 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. Az 5. hivatkozás eltávolítása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. A CH-REP információ hozzáadva.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

Návod k použití

Sada leukocytární kyseliny fosfatázy (TRAP)

Postup č. 387



Určené použití

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

Použití substituovaných naftol AS fosfátů ve spojení s diazoniovými solemi pro detekci kyselých fosfatáz v lidských leukocytech bylo poprvé zmíněno Goldbergem a Barkou.¹ Postup společnosti Sigma-Aldrich pro prokázání tohoto enzymu využívá naftol AS-BI fosfát a čerstvě diazotovanou sůl Fast Garnet GBC. Druhá uvedená sloučenina byla vybrána, protože se při kyselém pH rychle spojuje a vytváří vysoce nerozpustná depozita barviv.

Většina postupů, včetně postupů poskytovaných společností Sigma-Aldrich, používá stabilní diazoniové soli. Ty vznikají reakcí arylaminu s dusitanem sodným v kyselém prostředí.² Výsledný chlorid diazonný (obvykle nestabilní) pak může být ošetřen sloučeninami, jako je chlorid zinečnatý, síran zinečnatý nebo naftalen-1,6-disulfonát, za vzniku stabilních solí. Tyto stabilizátory mohou výrazně inhibovat některé enzymatické systémy, zatímco chloridy diazonné jsou méně inhibiční.² Z tohoto důvodu nyní společnost Sigma-Aldrich poskytuje pro cytochemii kyselých fosfatáz stabilní roztok základu Fast Garnet GBC a dusitanu sodného. Pro další zjednodušení této metody je rovněž zahrnut stabilní vodný roztok naftol AS-BI fosfátu. Dostupnost těchto stabilních roztoků umožňuje uživatelům přizpůsobit objemy činidel konkrétním potřebám, a eliminovat tak odpad.

Podle postupu společenosti Sigma-Aldrich se krevní nátěry inkubují v roztoku obsahujícím naftol AS-BI kyselinu fosforečnou a čerstvě diazotovaný Fast Garnet GBC. Duplicitní nátěry lze ošetřit roztokem obsahujícím L(+)-vinát. Naftol AS-BI, uvolněný enzymatickou hydrolyzou, se okamžitě spojuje s činidlem Fast Garnet GBC a vytváří na místech aktivity nerozpustná depozita kaštanové barvy. Buňky obsahující kyselou fosfatázu citlivou na kyselinu vinnou nejsou aktivní. Tyto mononukleární buňky obsahující fosfatázu rezistentní vůči kyselině vinné nejsou tímto ošetřením ovlivněny.

Činidla

Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné (kat. č. 3871-10ML)

Naftol AS-BI kyselina fosforečná, 12,5 mg/ml

Základní roztok Fast Garnet GBC (kat. č. 3872-10ML)

Základní roztok Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, v 0,4 mol/l kyseliny chlorovodíkové se stabilizátorem. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Může způsobit rakovinu.

Roztok acetaátu (kat. č. 3863-50ML)

Acetátový pufr, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Roztok vinanu (kat. č. 3873-10ML)

L(+)-vinanový pufr, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Varování. Způsobuje mírné podráždění kůže.

Roztok dusitanu sodného (kat. č. 914-10ML)

Dusitan sodný, 0,1 mol/l

Roztok citrátu (kat. č. 915-50ML)

Kyselina citronová, 18 mmol/l, citrónan sodný, 9 mmol/l, chlorid sodný, 12 mmol/l a povrchově aktivní látka, pH 3,6 ± 0,1

Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 (kat. č. GHS3-50ML)

Hematoxilin, certifikovaný, 6,0 g/l, C.I. 75290 jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hlinitý, 52,8 g/l a stabilizátory. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje vážné poškození očí. Používejte ochranné rukavice / ochranu očí / ochranu obličeje.

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Aceton, ACS činidlo
- Formaldehyd, 37%

Skladování a stabilita

Uchovávejte roztok hematoxylinu při pokojové teplotě (18–26 °C). Chraňte před světlem. Na štítku činidla je uvedeno datum spotřeby.

Uchovávejte roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné, základní roztok Fast Garnet GBC, roztok acetaátu, roztok vinanu, roztok dusitanu sodného a roztok citrátu při teplotě 2–8 °C.

Uchovávejte fixační roztok v chladu (2–8 °C). Před použitím zahřejte na 18–26 °C. Stabilní až 2 měsíce, pokud je uchovávaný pevně uzavřený v chladničce. Pokud zaznamenáte odpaření, fixační roztok zlikvidujte a připravte čerstvý.

Znehodnocení

Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné, roztok vinanu by měl být zlikvidován, pokud se objeví zákal.

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

Pokud roztok hematoxylinu zhnědne (nadměrně oksyložený ze vzduchu) nebo zfaloví (ztráta kyselosti), měl by být zlikvidován.

Příprava

Činidla jsou dodávána připravená k použití.

Připravte fixační roztok tak, že smícháte 25 ml roztoku citrátu, 65 ml acetonu a 8 ml 37% formaldehydu. Vložte do skleněné lahvičky a pevně uzavřete.

Bezpečnostní opatření

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

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

Postup

Odběr vzorků

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

Lze použít nátěry krve a kostní dřeni, tkáňové preparáty a cytocentrifugační preparáty. Jako antikoagulant poslouží buď EDTA, nebo heparin. Nátěry krve nebo kostní dřeni mohou být uchovávány při pokojové teplotě (18–26 °C) po dobu několika týdnů nebo bez fixace po dobu několika dnů bez znatelné změny aktivity.³ Neposílejte plnou krev k analýze do jiných laboratorí. Posílejte fixovanou nebo nefixovanou sklička. Sklička by měla být během přepravy uchovávána v chladu. Nechejte nátěry uschnout nejméně 1 hodinu před fixací.

Poznámky

Účinnost testů by měla být monitorována zahrnutím krevního nátěru od zdravého jedince.

Postup

- Předehřejte dostatečné množství deionizované vody pro celodenní použití na 37 °C. Před použitím zkontrolujte teplotu.
- Fixační roztok zahřejte na pokojovou teplotu (18–26 °C). Zafixujte sklička ponořením do fixačního roztoku na 30 sekund. Důkladně propláchněte v deionizované vodě: Nedovolte, aby sklička vyschla.
- Do každé ze 2 zkumavek přidejte 0,5 ml základního roztoku Fast Garnet GBC a 0,5 ml roztoku dusitanu sodného. Míchejte jemným překlápěním po dobu 30 sekund. Nechte odstát 2 minuty.
- Označte dvě 100ml kádinky A a B a za míchání přidejte následující:

	Kádinka A	Kádinka B
Deionizovaná voda předehřátá na 37 °C	45 ml	45 ml
Diazotizovaný roztok Fast Garnet GBC (krok 3)	1,0 ml	1,0 ml
Roztok naftol AS-BI fosfátu	0,5 ml	0,5 ml
Acetátový roztok	2,0 ml	2,0 ml
Roztok vinanu	–	1,0 ml

- Označte Coplinovy nádoby A a B a přeneste roztoky z kádinek do příslušné Coplinovy nádoby. Ohřejte roztoky v nádobách ve vodní lázni na 37 °C. Před přidáním skliček zkontrolujte, zda je teplota 37 °C.
- Přidejte sklička do Coplinových nádob a inkubujte 1 hodinu ve vodní lázni o teplotě 37 °C chráněné před světlem.
- Po 1 hodině důkladně opláchněte sklička v deionizované vodě, poté kontrastně barvěte 2 minuty v roztoku hematoxylinu dle Gilla č. 3.
- Několik minut oplachujte v alkalické vodě z vodovodu až na modrá jádra.
- Vysušte na vzduchu a mikroskopicky vyhodnoťte. Není doporučeno používat krycí skličko, protože barvivo časem vybledne.

Pracovní charakteristiky

Výsledky

Barvené krevní nátěry jsou hodnoceny subjektivně na přítomnost nebo nepřítomnost retikulocytů. Při absenci kyseliny vinné vyazuje většina leukocytů zmitá místa aktivity. Při inkubaci ve vinanu mohou být občas pozorovány granule v lymfocytech a některých specializovaných makrofátech.⁴ U krevních nátěrů je pozitivní reakce označena přítomností více než dvou buněk s difúzní a intenzivní aktivitou, tj. více než 40 granulí.⁴ Pro vyhodnocení Golgiho barvení, charakteristického pro lymfocyty thymu (T-lymfocyty), se doporučuje postup č. 181 společnosti Sigma-Aldrich.

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

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

Analytické pracovní charakteristiky

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

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
3871	Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečné	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3872	Základní roztok Fast Garnet GBC	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3873	Roztok vinanu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3863	Acetátový roztok	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
914	Roztok 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
GHS3	Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

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

387A:



- H290 Může být korozivní pro kovy.
- H302 Zdraví škodlivý při požití.
- H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H350 Může způsobit rakovinu.
- H373 Může způsobit poškození orgánů (ledviny) při dlouhodobé nebo opakované expozici při požití.
- P202 Nemanipulujte, dokud si nepřečtete a neporozumíte všem bezpečnostním opatřením.
- P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P301 + P312 PŘI POŽITÍ: Pokud se necítíte dobře, 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 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování.

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

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktní informace

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

Historie revizí

Rev. 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. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Odstraněna reference číslo 5. Přidána varování a rizika. Přidány informace CH-REP.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Bruksanvisning

Leukocytttsyrefosfatase (TRAP)-sett

Prosedyre nr. 387



Tiltenkt bruk

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

Bruk av substituerte naftol-AS-fosfater i forbindelse med diazoniumsalter for påvisning av sur fosfatase i humane leukocytt ble først rapportert av Goldberg og Barka.¹ Sigma-Aldrich-prosedyren for å påvise dette enzymet benytter naftol-AS-BI-fosfat og ferskt diazotisert Fast Garnet GBC-salt. Sistnevnte forbindelse ble valgt fordi den kobler seg raskt ved sur pH, og danner svært uøselige fargestoffavsetninger.

De fleste prosedyrer, inkludert de fra Sigma-Aldrich, benytter stabile diazoniumsalter. Disse dannes ved å reagere et arylamin med natriumnitritt i et surt medium.² Det resulterende diazoniumkloridet (som regel ustabil) kan deretter behandles med forbindelser som sinkklorid, sinksulfat eller naftalen-1,6-disulfonat, som danner stabile salter. Disse stabiliseringsmidlene kan utøve markert hemming på enkelte enzymsystemer, mens diazoniumkloridene er mindre hemmende.² Av denne grunn tilbyr Sigma-Aldrich nå en stabil løsning av Fast Garnet GBC-base og natriumnitritt for sur fosfatase-cytokjemi. For å forenkle denne metoden ytterligere inngår også en stabil vandig løsning med naftol-AS-BI-fosfat. Tilgjengeligheten av disse stabile løsningene gjør at brukeren kan justere volumene av arbeidsreagens etter behov, noe som eliminerer avfall.

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

Reagenser

Naftol-AS-BI-fosforsyreløsning (kat.nr. 3871-10ML)

Naftol-AS-BI-fosforsyre, 12,5 mg/ml

Fast Garnet GBC-baseløsning (kat.nr. 3872-10ML)

Fast Garnet GBC-base, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, i 0,4 mol/l saltsyre med stabiliseringsmiddel. Fare. Farlig ved svelging. Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Kan forårsake kreft.

Acetatløsning (kat.nr. 3863-50ML)

Acetatbuffer, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Tartratløsning (kat.nr. 3873-10ML)

L(+)-tartratbuffer, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Advarsel. Gir mild hudirritasjon.

Natriumnitrittløsning (kat. nr. 914-10ML)

Natriumnitritt, 0,1 mol/l.

Sitratløsning (kat.nr. 915-50ML)

Sitronsyre, 18 mmol/l, natriumsitrat, 9 mmol/l, natriumklorid, 12 mmol/l og overflateaktivt middel, pH 3,6 ± 0,1.

Hematoksylinløsning, Gill-nr. 3 (kat.nr. GHS3-50ML)

Hematoksylin, sertifisert, 6,0 g/l, C.I. 75290, natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabiliseringsmidler. Fare. Farlig ved svelging. Gir alvorlig øyeskade. Benytt vernehansker/øyevern/ansiktsvern.

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyd, 37 %

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar hematoksylinløsning i romtemperatur (18–26 °C). Beskytt mot lys. Utløpsdato er angitt på reagensetiketten.

Oppbevar naftol-AS-BI-fosforsyreløsning, Fast Garnet GBC-baseløsning, acetatløsning, tartratløsning, natriumnitrittløsning og sitratløsning ved 2–8 °C.

Oppbevar fikseringsløsning i kjøleskap (2–8 °C). Varm opp til 18–26 °C før bruk. Stabil i opptil 2 måneder ved oppbevaring godt lukket i kjøleskap. Hvis det observeres fordamping, må fikseringsløsningen kasseres og fremstilles på nytt.

Forringelse

Naftol-AS-BI-fosforsyreoppløsning, tartratløsning bør kasseres hvis den blir uklar.

Sitratløsningen er egnet for bruk ved fravær av mikrobiell vekst.

Hematoksylinløsning skal kastes hvis løsningen blir brun (overoksidert fra luft) eller lilla (tap av surhet).

Fremstilling

Reagenser leveres klare til bruk.

Fremstill fikseringsløsning ved å kombinere 25 ml sitratløsning, 65 ml aceton og 8 ml 37 % formaldehyd. Plasser i en glassflaske og lukk godt igjen.

Forsiktighetsregler

Disse IVD-ene er tiltenkt 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 laboratoriestyr 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 bloderivater eller vevsprøver bør derfor betraktes som potensielt smittefarlige.

Blod, benmargsfiler, vevsberøringsavtrykk og cytosentrifugepreparater kan brukes. Enten EDTA eller heparin fungerer som antikoagulanter. Blod- eller benmargsfiler kan oppbevares fiksert i romtemperatur (18–26 °C) i flere uker eller ufiksert i flere dager uten merkbar endring i aktivitet.³ Send ikke fullblod til analysering på andre laboratorier. Send fikserte eller ufikserte objektglass. Objektglass bør oppbevares kjølig under transport. La filmen tørke minst 1 time før fiksering.

Merknader

Testytelsen bør overvåkes ved å inkludere blodfilmer fremstilt fra en frisk person.

Prosedyre

1. Forvarm nok avionisert vann til én dags bruk til 37 °C. Kontroller temperaturen før bruk.
2. Romtemperatur (18–26 °C) fikseringsløsningen. Fikser objektglass ved å senke dem ned i fikseringsløsning i 30 sekunder. Skyll grundig i avionisert vann: Objektglassene skal ikke lufttørkes.
3. I hvert av de to testrørene tilsetter du 0,5 ml Fast Garnet GBC-baseløsning og 0,5 ml natriumnitrittløsning. Bland ved å snu opp ned varsomt i 30 sekunder. La stå i 2 minutter.
4. Merk to 100 ml begre A og B og tilsett følgende mens du blander:

	Beger A	Beger B
Avionisert vann forvarmet til 37 °C	45 ml	45 ml
Diazotisert Fast Garnet GBC-løsning (trinn 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naftol-AS-BI-fosfatløsning	0,5 ml	0,5 ml
Acetatløsning	2,0 ml	2,0 ml
Tartratløsning	–	1,0 ml

5. Merk Coplin-beholderne A og B og overfør løsninger fra begre til den egnede Coplin-beholderen. Varm løsningene i beholdere til 37 °C i vannbad. Sjekk at temperaturen er 37 °C før du legger til objektglass.
6. Legg objektglass i Coplin-beholdere og inkuber 1 time i 37 °C vannbad beskyttet mot lys.
7. Etter 1 time, skyll objektglassene grundig i avionisert vann, og kontrastfarg deretter i 2 minutter i hematoksylinløsning, Gill-nr. 3.
8. Skyll flere minutter i alkalisk vann fra springen til blå kjerner.
9. Lufttørk og evaluer mikroskopisk. Dekkglass anbefales ikke, siden fargen falmer med tiden.

Ytelsesegenskaper

Resultater

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

Sur fosfatase-aktivitet vises som lilla til mørkerøde granuler i cytoplasmaet til de fleste leukocytt.

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
3871	Naftol-AS-BI-fosforsyreløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3872	Fast Garnet GBC-baseløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3873	Tartratløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3863	Acetatløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
914	Natriumnitrittløsning	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
GHS3	Hematoksylinløsning, Gill-nr. 3	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3

Advarsler og farer

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

387A:



- H290 Kan være etsende for metaller.
- H302 Farlig ved svelging.
- H314 Gir alvorlige etseskader på hud og øyne.
- H350 Kan forårsake kreft.
- H373 Kan forårsake organskader (nyrer) ved langvarig eller gjentatt eksponering.
- P202 Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P301 + P312 VED SVELGING: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege ved ubehag.
- P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann.
- P304 + P340 + P310 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

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

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

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

Referanser

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktinformasjon

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

Revisjonshistorikk

Rev. 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. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. Fjernet referansenummer 5. La til advarsler og farer. La til informasjon om CH-REP.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Kullanma Talimatı

Lökosit Asit Fosfataz (TRAP) Kiti

Prosedür No. 387



Kullanım Amacı

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

İnsan lökositlerinde asit fosfatazın saptanması için ikame edilmiş naftol AS fosfatların diazonyum tuzları ile birlikte kullanımı ilk olarak Goldberg ve Barka tarafından rapor edilmiştir.¹ Bu enzim göstermek için kullanılan Sigma-Aldrich prosedüründe, naftol AS-BI fosfat ve yeni diazotize edilmiş hızlı garnet GBC tuzu kullanılır. İkinci bileşik, asit pH'ta hızla birleşerek yüksek oranda çözünmez boya birikintileri oluşturduğu için seçilmiştir.

Sigma-Aldrich tarafından sağlananlar da dahil olmak üzere çoğu prosedürde stabil diazonyum tuzları kullanılır. Bunlar, bir asit ortamında arilamin ile sodyum nitritin reaksiyona sokulmasıyla oluşturulur.² Ortaya çıkan diazonyum klorür (genellikle instabil), daha sonra stabil tuzlar oluşturan çinko klorür, çinko sülfat veya naftalin-1,6-disülfonat gibi bileşiklerle işlenebilir. Bu stabilizatörler, bazı enzimatik sistemler üzerinde belirgin inhibisyon uygulayabilirken, diazonyum klorürler daha az inhibitördür.² Bu nedenle, Sigma-Aldrich artık asit fosfataz sitokimyası için stabil bir hızlı garnet GBC bazı ve sodyum nitrit çözeltisi sağlamaktadır. Bu yöntemi daha da basitleştirmek için, stabil bir sulu naftol AS-BI fosfat da dahil edilmiştir. Bu stabil çözeltilerin mevcudiyeti, kullanıcıların çalışma reaktifi ölçülerini ihtiyaca göre ayarlayarak israfı ortadan kaldırmasına olanak tanır.

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

Reaktifler

Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi (Kat. No. 3871-10ML)

Naftol AS-BI fosforik asit, 12,5 mg/mL.

Hızlı Garnet GBC Baz Çözeltisi (Kat. No. 3872-10ML)

Hızlı garnet GBC baz, 7,0 mg/mL, C.I. 11160, 0,4 mol/L hidroklorik asit içinde stabilizatör ile. Tehlike. Yutulması halinde zararlıdır. Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur. Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Kansere neden olabilir.

Asetat Çözeltisi (Kat. No. 3863-50ML)

Asetat tamponu, 2,5 mol/L, pH 5,2 ± 0,1.

Tartarat Çözeltisi (Kat. No. 3873-10ML)

L(+)-Tartarat tamponu, 0,335 mol/L, pH 4,9 ± 0,1. Uyarı. Hafif cilt tahrişine neden olur.

Sodyum Nitrit Çözeltisi (Kat. No. 914-10ML)

Sodyum nitrit, 0,1 mol/L.

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.

Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3 (Kat. No. GHS3-50ML)

Hematoksilen, sertifikalı, 6,0 g/L, C.I. 75290, sodyum iyodat, 0,6 g/L, alüminyum sülfat, 52,8 g/L ve stabilizatörler. Tehlike. Yutulması halinde zararlıdır. Ciddi göz hasarına neden olur. Koriyucu eldiven/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Aseton, ACS Reaktif
- Formaldehit, %37

Saklama ve Stabilite

Hematoksilen Çözeltisini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Işıktan koruyun. Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur.

Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi, Hızlı Garnet GBC Baz Çözeltisi, Asetat Çözeltisi, Tartarat Çözeltisi, Sodyum Nitrit Çözeltisi ve Sitrat Çözeltisini 2–8°C'de saklayın.

Fiksatif Çözeltiyi buzdolabında (2–8°C) saklayın. Kullanmadan önce 18–26°C'ye ısıtın. Ağzı sıkıca kapalı olarak buzdolabında saklanırsa 2 aya kadar stabildir. Buharlaştırma görülürse Fiksatif Çözeltiyi atın ve yeniden hazırlayın.

Bozulma

Bulanıklık olursa Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi, Tartarat Çözeltisi atılmalıdır.

Sitrat çözeltisi, görünür mikrobiyal büyümenin olmadığı durumlarda kullanıma uygundur.

Çözelti kahverengiyeye dönerse (havadan aşırı oksitlenme) veya mora dönerse (asidite kaybı) Hematoksilen Çözelti atılmalıdır.

Hazırlama

Reaktifler kullanıma hazır olarak sağlanır.

25 mL Sitrat Çözeltisi, 65 mL aseton ve 8 mL %37 formaldehiti birleştirerek Fiksatif Çözeltiyi hazırlayın. Cam şişeye koyun ve ağzını sıkıca kapatın.

Önlemler

Bu IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar 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.

Kan, kemik iliği filmleri, doku dokundurma preparatları ve hücre santrifüj preparatları kullanılabilir. EDTA veya heparin, antikoagülan görevi görür. Kan veya kemik iliği filmleri, aktivitede kayda değer bir değişiklik olmaksızın oda sıcaklığında (18–26°C) fiksasyon ile birkaç hafta veya fiksasyon olmadan birkaç gün saklanabilir.³ Diğer laboratuvarlarda tahlil için tam kanı göndermeyin. Fiksasyonlu ve fiksasyonsuz lamaları gönderin. Taşıma sırasında lamalar soğuk kalmalıdır. Fiksasyondan en az 1 saat önce filmlerin kurumasını bekleyin.

Notlar

Test performansı, sağlıklı bir kişiden hazırlanan kan filmleri dahil edilerek izlenmelidir.

Prosedür

- Bir günlük kullanım için yeterince deiyonize suyu önceden 37°C'ye ısıtın. Kullanmadan önce sıcaklığı doğrulayın.
- Fiksatif Çözeltiyi oda sıcaklığına (18–26°C) getirin. Fiksatif Çözeltiyi daldırarak lamalara 30 saniye fiksasyon uygulayın. Deiyonize suda iyice durulayın: Lamaların kurumasına izin vermeyin.
- 2 test tüpünün her birine 0,5 mL Hızlı Garnet GBC Baz Çözeltisi ve 0,5 mL Sodyum Nitrit Çözeltisi ekleyin. Hafifçe ters çevirerek 30 saniye karıştırın. 2 dakika bekletin.
- İki adet 100 mL'lik beheri A ve B olarak etiketleyin ve karıştırırken aşağıdakileri ekleyin:

	Beher A	Beher B
Önceden 37°C'ye ısıtılmış deiyonize su	45 mL	45 mL
Diazotize Hızlı Garnet GBC Çözeltisi (Adım 3)	1,0 mL	1,0 mL
Naftol AS-BI Fosfat Çözeltisi	0,5 mL	0,5 mL
Asetat Çözeltisi	2,0 mL	2,0 mL
Tartarat Çözeltisi	–	1,0 mL

- Coplin kavanozlarını A ve B olarak etiketleyin ve çözeltileri beherlerden uygun Coplin kavanozlarına aktarın. Çözeltileri kavanozlarda 37°C'ye kadar su banyosu ile ısıtın. Lamaları eklemekten önce sıcaklığın 37°C'de olduğunu doğrulayın.
- Lamaları Coplin kavanozlarına ekleyin ve ışıktan koruyarak 37°C su banyosunda 1 saat inkübe edin.
- 1 saat sonra lamaları deiyonize suda iyice durulayın, ardından Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3 içinde 2 dakika zıt boyama yapın.
- Mavi çekirdek oluşana kadar alkali musluk suyunda birkaç dakika durulayın.
- Kurumaya bırakın ve mikroskopik olarak değerlendirin. Boya zamanla solduğu için lamel tavsiye edilmez.

Performans Özellikleri

Sonuçlar

Boyalı kan filmleri genellikle tartarata dirençli enzimin varlığı veya yokluğu açısından subjektif olarak değerlendirilir. Tartarik asit olmadığı durumlarda, çoğu lökosit granüller aktivite alanları gösterir. Tartarat ile inkübe edildiğinde, lenfositlerde ve bazı özel makrofajlarda ara sıra bir granül gözlemlenebilir.⁴ Kan smear'larında pozitif reaksiyon, yaygın ve yoğun aktiviteye sahip iken fazla hücrenin, yani 40'tan fazla granülün varlığıyla gösterilir.⁴ Timus kaynaklı lenfositlerin (T hücreleri) özelliği olan Golgi boyamasını değerlendirmek için Sigma-Aldrich Prosedürü No. 181 önerilir.

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

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

Analitik Performans Özellikleri

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

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
3871	Naftol AS-BI Fosforik Asit Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3872	Hızlı Garnet GBC Baz Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3873	Tartarat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3863	Asetat Çözeltisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
914	Sodyum Nitrit Çözeltisi	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
GHS3	Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3

Uyarılar ve Tehlikeler

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

387A:



H290 Metaller için aşındırıcı olabilir.

H302 Yutulması halinde zararlıdır.

H314 Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına neden olur.

H350 Kanserle neden olabilir.

H373 Yutulması halinde uzun süreli veya tekrarlı maruziyet sonucu organlarda (böbrek) hasara neden olabilir.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.

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

P301 + P312 YUTULMASI HALİNDE: Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

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

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

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

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

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

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

Referanslar

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com) adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen [SigmaAldrich.com/techservice](https://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. 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. 5 numaralı referans kaldırıldı. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. İsviçre'deki yetkili temsilci bilgileri eklendi.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
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 KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the U.S. and Canada.

Sigma-Aldrich®

Käyttöohje

Leukosyyttien happaman fosfataasin (TRAP) pakkaus

Menetelmänro 387



Käyttötarkoitus

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

Goldberg ja Barka raportoivat ensimmäisinä substituutitujen naftoli-AS-fosfaattien käytöstä yhdessä diatsoniumsuolojen kanssa happaman fosfataasin havaitsemiseksi ihmisen leukosyyteissä.¹ Sigma-Aldrichin menetelmä tämän entsyymin osoittamiseksi hyödyntää naftoli-AS-BI-fosfaattia ja juuri diatsotoitua nopeaa granaatti-GBC-suolaa. Jälkimmäinen yhdiste valittiin ominaisuuksien ansiosta, sillä se kytkeytyy nopeasti happamassa pH:ssa, jolloin väriainekertymien liukenemattomuusaste on korkea.

Useimmissa menetelmissä, Sigma-Aldrichin menetelmä mukaan lukien, käytetään stabiileja diatsoniumsuoloja. Niitä muodostetaan aryyliamiinin ja natriumnitriitin välisellä reaktiolla happoväliaineessa.² Muodostunut (yleensä epästabiili) diatsoniumkloridi voidaan tämän jälkeen käsitellä stabiileja suoloja muodostavilla yhdisteillä, kuten sinkkikloridilla, sinkkisulfaattilla tai naftaleeni-1,6-disulfonaattilla. Nämä stabilointiaineet voivat aiheuttaa huomattavaa inhibitiota joihinkin entsyymijärjestelmiin, kun taas diatsoniumkloridit eivät ole yhtä inhiboivia.² Tästä syystä Sigma-Aldrich toimittaa nyt stabiilin nopean granaatti-GBC-pohjaliuoksen ja natriumnitriittiliuoksen happaman fosfataasin solukemiaa varten. Menetelmän yksinkertaistamiseksi pakkaus sisältää myös stabiilin naftoli-AS-BI-fosfaatti-vesiliuoksen. Stabiilien liuosten saatavuus auttaa käyttäjiä säätämään työskentelyreagenssien määriä tarpeen mukaan ja vähentämään hävikkiä.

Sigma-Aldrichin menetelmässä veren sivelyvalmisteita inkuboidaan liuoksessa, joka sisältää naftoli-AS-BI-fosforihappoa ja juuri diatsotoitua nopeaa granaatti-GBC:tä. Sivelyvalmistesten kaksoiskappaleita voidaan käsitellä L(+)-tartraattia sisältävällä liuoksella. Entsymaattisen hydrolyysin vapauttama naftoli-AS-BI kytkeytyy välittömästi nopeaan granaatti-GBC:hen ja muodostaa liukenemattomia violetinruskeita värikertymiä toiminta-alueille. Viinihappoherkkää hapanta fosfataasia sisältävissä soluissa ei ilmene toimintaa. Käsitely ei vaikuta viinihapporesistenttiä fosfataasia sisältäviin yksitumaisiin soluihin.

Reagenssit

Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos (luettelonro 3871-10ML)

Naftoli-AS-BI-fosforihappo, 12,5 mg/ml

Nopea granaatti-GBC-pohjaliuos (luettelonro 3872-10ML)

Nopea granaatti-GBC-pohja, 7,0 mg/ml, väri-indeksi 11160, stabilointiainetta sisältävässä suolahapossa, jonka pitoisuus on 0,4 mol/l. Vaara. Haitallista nieltynä. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Saattaa aiheuttaa syöpää.

Asetaattiliuos (luettelonro 3863-50ML)

Asetaattipuskuri, 2,5 mol/l, pH 5,2 ±0,1

Tartraattiliuos (luettelonro 3873-10ML)

L(+)-tartraattipuskuri, 0,335 mol/l, pH 4,9 ±0,1. Varoitus. Ärsyttää lievästi ihoa.

Natriumnitriittiliuos (luettelonro 914-10ML)

Natriumnitritiä, 0,1 mol/l

Sitraattiliuos (luettelonro 915-50ML)

Sitruunahappo, 18 mmol/l, natriumsitraatti, 9 mmol/l, natriumkloridi, 8 mmol/l, ja pinta-aktiivinen aine, pH 3,6 ±0,1

Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3 (luettelonro GHS3-50ML)

Hematoksyliini, sertifioitu, 6,0 g/l, väri-indeksi 75290, natriumjodaatti, 0,6 g/l, alumiinisulfaatti, 52,8 g/l, ja stabilointiaineet. Vaara. Haitallista nieltynä. Voimakkaasti silmiä vaurioittavaa. Käytä suojakäsineitä/silmien suojainta/kasvosuojainta.

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Asetoni, ACS-reagenssi
- Formaldehydi, 37 %

Säilytys ja stabiilius

Säilytä hematoksyliiniliuos huoneenlämmössä (18–26 °C). Suojattava valolta. Viimeinen käyttöpäivä on merkitty reagenssin etikettiin.

Säilytä naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos, nopea granaatti-GBC-suolaliuos, asetaattiliuos, tartraattiliuos, natriumnitriittiliuos ja sitraattiliuos 2–8 °C:ssa.

Säilytä fiksatiiviliuos jääkaapissa (2–8 °C). Lämmitä 18–26 °C:n lämpötilaan ennen käyttöä. Liuos on stabiili enintään kaksi kuukautta, jos sitä säilytetään tiiviisti suljettuna jääkaapissa. Hävitä fiksatiiviliuos, jos haihtumista havaitaan, ja valmista uusi liuos.

Pilaantuminen

Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos, tartraattiliuos on hävitettävä, jos se samenee.

Sitraattiliuos soveltuu käytettäväksi, kun mikrobikasvua ei ole.

Hematoksyliiniliuos on hävitettävä, jos liuos muuttuu ruskeaksi (ylioksidoitunut ilman vaikutuksesta) tai violetiksi (happamuuden häviäminen).

Valmistelu

Reagenssit toimitetaan käyttövalmiina.

Valmista fiksatiiviliuos yhdistämällä 25 ml sitraattiliosta, 65 ml asetonia ja 8 ml 37-prosenttista formaldehydiä. Laita lasipulloon ja sulje se tiiviisti.

Varotoimet

Nämä 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 ihmisperiäisiä näytteitä ja käyttämään mikroskooppeja ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskoopilla.

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

Menettely

Näytteenotto

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

Verta, luuytimen sivelyvalmisteita, kudосosketusvalmisteita ja sytosentrifugivalmisteita voidaan käyttää. Antikoagulanttina käytetään joko EDTA:ta tai hepariinia. Veren tai luuytimen sivelyvalmisteita voidaan säilyttää kiinnitettyinä huoneenlämmössä (18–26 °C) useita viikkoja tai kiinnittämättöminä useita päiviä ilman huomattavaa muutosta toiminnassa.³ Älä lähetä kokoverta määritettäväksi toisiin laboratorioihin. Lähetä kiinnitettyjä tai kiinnittämättömiä objektilaseja. Objektilasit on pidettävä viileinä kuljetuksen aikana. Anna sivelyvalmistesten kuivua vähintään yksi tunti ennen kiinnitystä.

Huomautukset

Testin suorituskykyä on valvottava sisällyttämällä testiin terveeltä henkilöltä otetun veren sivelyvalmiste.

Menettely

- Esilämmitä päivän tarpeiksi riittävä määrä deionisoitua vettä 37 °C:seen. Tarkista lämpötila ennen käyttöä.
- Anna fiksatiiviliuoksen tasaantua huoneenlämpöön (18–26 °C). Kiinnitä objektilasit upottamalla ne fiksatiiviliuokseen 30 sekunniksi. Huuhtelee huolellisesti deionisoidussa vedessä: Älä päästä objektilaseja kuivumaan.
- Lisää kumpaankin koeputkeen 0,5 ml nopeaa granaatti-GBC-pohjaliosta ja 0,5 ml natriumnitriittiliosta. Sekoita kääntelemällä varovasti 30 sekunnin ajan. Anna asettua kaksi minuuttia.
- Merkitse kaksi 100 ml:n dekanterilasiasia A ja B ja lisää seuraavat aineet samalla sekoittaen:

	Dekanterilasi A	Dekanterilasi B
Deionisoitu vesi, esilämmitetty 37 °C:seen	45 ml	45 ml
Diatsotoitu nopea granaatti-GBC-liuos (vaihe 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naftoli-AS-BI-fosfaattiliuos	0,5 ml	0,5 ml
Asetaattiliuos	2,0 ml	2,0 ml
Tartraattiliuos	—	1,0 ml

- Merkitse Coplin-astiat A ja B ja siirrä liuokset dekanterilaseista vastaaviin Coplin-astioihin. Lämmitä liuokset astioissa 37 °C:seen vesihuuteessa. Tarkista ennen objektilasien lisäämistä, että lämpötila on 37 °C.
- Lisää objektilaseja Coplin-astioihin ja inkuboi yksi tunti 37 °C:n vesihuuteessa valolta suojattuna.
- Kun tunti on kulunut, huuhtelee objektilasit huolellisesti deionisoidussa vedessä ja vastavärvää sitten kaksi minuuttia hematoksyliiniliuoksessa, Gillin nro 3.
- Huuhtelee useita minuutteja emäksisessä vesiohotevedessä, jotta tumat sinertyvät.
- Anna kuivua ja arvioi mikroskooppisesti. Peitinasien käyttämistä ei suositella, sillä väriaine haalistuu ajan kuluessa.

Suorituskykyominaisuudet

Tulokset

Tartraattiresistentin entsyymin läsnäolo värjäytyssä veren sivelyvalmisteissa arvioidaan yleensä subjektiivisesti. Mikäli viinihappoa ei ole, suurimmassa osassa leukosyyttejä havaitaan granulaarisia toiminta-alueita. Tartraatin kanssa inkuboituina lymfositteissa ja joissain erikoistuneissa makrofageissa voidaan havaita satunnaisia granuloita.⁴ Veren sivelynäytteissä positiivinen reaktio ilmenee useammasta kuin kahdesta solusta, joissa on diffuusia ja voimakasta toimintaa, eli yli 40 granulaata.⁴ Kateenkorvasta peräisin oleville lymfositteille (T-solut) ominainen Golgin värijäksen arviointiin suositellaan Sigma-Aldrichin menetelmää nro 181.

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

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

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittäksen sisäisen spesifisyys	Määrittäksen sisäisen herkkyyys	Määrittysten välinen spesifisyys	Määrittysten välinen herkkyyys
3871	Naftoli-AS-BI-fosforihappoliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3872	Nopea granaatti-GBC-pohjaliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3873	Tartraattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3863	Asetaattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
914	Natriumnitriittiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
915	Sitraattiliuos	Toiminta-alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3	Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3	Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

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

387A:



H290 Voi syövyttää metalleja.

H302 Haitallista nieltynä.

H314 Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa.

H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.

H373 Saattaa vahingoittaa elimiä (munuaiset) nieltynä pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa.

P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

P301 + P312 JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.

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

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

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

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

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		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

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

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. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. "Materiaalin käyttöturvallisuustiedote" päivitetty muotoon "käyttöturvallisuustiedote". Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosioista poistettu "EN 980" ja tilalle vaihdettu "EN ISO 15223-1:2021". Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Poistettu lähde 5. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat. Lisätty CH-REP-tiedot.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Gebruiksaanwijzing

Leukocyten zure-fosfatasekit (TRAP)

Procedurenr. 387



Beoogd gebruik

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

Het gebruik van gesubstitueerde naftol AS-fosfaten in combinatie met diazoniumzouten voor het aantonen van zure fosfatase in humane leukocyten werd voor het eerst gemeld door Goldberg en Barka.¹ De Sigma-Aldrich-procedure voor het aantonen van dit enzym gebruikt naftol AS-BI-fosfaat en vers gediazoteerd fast garnet GBC-zout. De laatstgenoemde verbinding werd geselecteerd omdat deze snel koppelt bij een zure pH, waarbij zeer onoplosbare kleurstofafzettingen worden gevormd.

De meeste procedures, waaronder die van Sigma-Aldrich, maken gebruik van stabiele diazoniumzouten. Deze worden gevormd door een arylamine te laten reageren met natriumnitriet in een zuur medium.² Het resulterende diazoniumchloride (meestal instabiel) kan vervolgens worden behandeld met verbindingen zoals zinkchloride, zinksulfaat of naftaleen-1,6-disulfonaat, waarbij stabiele zouten worden gevormd. Deze stabilisatoren kunnen een duidelijke remming uitoefenen op sommige enzymatische systemen, terwijl de diazoniumchloriden minder remmend werken.² Om deze reden levert Sigma-Aldrich nu een stabiele oplossing van fast garnet GBC-base en natriumnitriet voor zure-fosfatasecytochemie. Om deze methode verder te vereenvoudigen is ook een stabiele waterige oplossing van naftol AS-BI-fosfaat opgenomen. De beschikbaarheid van deze stabiele oplossingen stelt gebruikers in staat om de volumes van werkreagentia aan te passen aan hun behoeften, waardoor verspilling wordt voorkomen.

Volgens de Sigma-Aldrich-procedure worden bloedfilms geïncubeerd in een oplossing die naftol AS-BI-fosforzuur en vers gediazoteerd fast garnet GBC bevat. Duplicaatfilms worden behandeld met een oplossing die L(+)-tartraat bevat. Naftol AS-BI, dat vrijkomt door enzymatische hydrolyse, koppelt onmiddellijk met fast garnet GBC, waarbij onoplosbare kastanjebruine kleurstofafzettingen worden gevormd op de plaatsen van activiteit. Cellen die wijnsteenzuurgevoelig zuur-fosfatase bevatten, vertonen geen activiteit. Mononucleaire cellen die wijnsteenzuurresistent fosfatase bevatten, worden niet beïnvloed door een dergelijke behandeling.

Reagentia

Naftol AS-BI-fosforzuuroplossing (cat. nr. 3871-10ML)

Naftol AS-BI-fosforzuur, 12,5 mg/mL

Fast garnet GBC-baseoplossing (cat. nr. 3872-10ML)

Fast garnet GBC-base, 7,0 mg/mL, C.I. 11160, in 0,4 mol/L zoutzuur met stabilisator. Gevaar. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Kan kanker veroorzaken.

Acetaatoplossing (cat. nr. 3863-50ML)

Acetaatbuffer, 2,5 mol/L, pH 5,2 ± 0,1

Tartraatoplossing (cat. nr. 3873-10ML)

L(+)-Tartraatbuffer, 0,335 mol/L, pH 4,9 ± 0,1. Waarschuwing. Veroorzaakt een milde huidirritatie.

Natriumnitrietoplossing (cat. nr. 914-10ML)

Natriumnitriet, 0,1 mol/L

Citraatoplossing (cat. nr. 915-50ML)

Citroenzuur, 18 mmol/L, natriumcitraat, 9 mmol/L, natriumchloride, 12 mmol/L, en oppervlakteactieve stof, pH 3,6 ± 0,1

Hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3 (cat. nr. GHS53-50ML)

Hematoxyline, gecertificeerd, 6,0 g/mL, C.I. 75290, natriumjodaat, 0,6 g/L, aluminiumsulfaat, 52,8 g/L en stabilisatoren. Gevaar. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt ernstig oogletsel. Draag beschermende handschoenen/oogbescherming/gezichtsbescherming.

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Aceton, ACS-reagens
- Formaldehyde, 37%

Opslag en stabiliteit

Bewaar hematoxyline-oplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C). Bescherm tegen licht. Op het etiket van het reagens staat de vervaldatum.

Bewaar naftol AS-BI-fosforzuuroplossing, fast garnet GBC-baseoplossing, acetaatoplossing, tartraatoplossing, natriumnitrietoplossing en citraatoplossing bij 2-8 °C.

Bewaar fixeeroplossing gekoeld (2-8 °C). Vóór gebruik opwarmen tot 18-26 °C. Stabiel gedurende 2 maanden, mits goed afgesloten bewaard in de koelkast. Gooi de fixeeroplossing weg als verdamping wordt waargenomen en maak nieuwe fixeeroplossing.

Verslechtering

Naftol AS-BI-fosforzuuroplossing, tartraatoplossing moet worden weggegooid als troebelheid ontstaat.

Citraatoplossing is geschikt voor gebruik in afwezigheid van microbiële groei.

De hematoxyline-oplossing moet worden weggegooid als de oplossing bruin wordt (overgeoxideerd door lucht) of paars (zuurgraadverlies).

Vorbereiding

Reagentia worden gebruiksklaar geleverd.

Prepareer de fixeeroplossing door 25 mL citraatoplossing te mengen met 65 mL aceton en 8 mL 37%-formaldehyde. Doe dit in een glazen fles en sluit goed af.

Voorzorgsmaatregelen

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

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. 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.

Bloed, beenmergfilms, 'tissue touch'-preparaten en cytocentrifugepreparaten kunnen worden gebruikt. EDTA of heparine dient als antistollingsmiddel. Bloed of beenmergfilms kunnen gefixeerd bij kamertemperatuur (18-26 °C) enkele weken of ongefixeerd enkele dagen worden bewaard zonder merkbare verandering in activiteit.³ Verstuur geen volbloed voor analyse naar andere laboratoria. Verstuur gefixeerde of niet-gefixeerde glaasjes. De glaasjes moeten koel worden bewaard tijdens transport. Laat de films ten minste 1 uur drogen vóór fixatie.

Opmerkingen

De prestaties van de test moeten worden gecontroleerd door ook een bloedfilm van een gezonde persoon te testen.

Procedure

1. Verwarm voldoende gede-ioniseerd water voor een dag gebruik voor tot 37 °C. Controleer de temperatuur vóór gebruik.
2. Breng de fixeeroplossing op kamertemperatuur (18-26 °C). Fixeer de objectglaasjes door ze 30 seconden onder te dompelen in fixeeroplossing. Spoel grondig in gede-ioniseerd water. Laat de objectglaasjes niet drogen.
3. Voeg aan elk van de 2 reageerbuizen 0,5 ml fast garnet GBC-baseoplossing en 0,5 ml natriumnitrietoplossing toe. Meng door voorzichtig omkeren gedurende 30 seconden. Laat 2 minuten staan.
4. Label twee 100mL-bekerglazen A en B en voeg het volgende toe, waarbij de inhoud voortdurend moet worden gemengd:

	Bekerglas A	Bekerglas B
Gede-ioniseerd water, voorverwarmd tot 37 °C	45 mL	45 mL
Gediazoteerde fast garnet GBC-oplossing (stap 3)	1,0 mL	1,0 mL
Naftol AS-BI-fosfaatoplossing	0,5 mL	0,5 mL
Acetaatoplossing	2,0 mL	2,0 mL
Tartraatoplossing	–	1,0 mL

5. Label Coplin-potjes A en B en breng oplossingen over van bekerglazen naar het juiste Coplin-potje. Verwarm de oplossingen in de potjes in een waterbad tot 37 °C. Controleer of de temperatuur 37 °C is alvorens de objectglaasjes toe te voegen.
6. Voeg objectglaasjes toe aan Coplin-potjes en incubeer 1 uur in een waterbad van 37 °C, beschermd tegen licht.
7. Spoel de objectglaasjes na 1 uur grondig in gede-ioniseerd water en pas dan 2 minuten tegenkleuring toe in hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3.
8. Spoel enkele minuten in alkalisch kraanwater om de kernen blauw te maken.
9. Laat drogen aan de lucht en evalueer microscopisch. Coverslipping wordt niet aanbevolen omdat de kleurstof na verloop van tijd vervaagt.

Prestatiekenmerken

Resultaten

Gekleurde bloedfilms worden meestal subjectief beoordeeld op de aan- of afwezigheid van tartraatresistent enzym. In afwezigheid van wijnsteenzuur vertonen de meeste leukocyten locaties met granulaire activiteit. Bij incubatie met tartraat kan een enkele granule worden waargenomen in lymfocyten en sommige gespecialiseerde macrofagen.⁴ In bloedsmears wordt een positieve reactie aangegeven door de aanwezigheid van meer dan twee cellen met diffuse en intense activiteit, d.w.z. meer dan 40 granula.⁴ Om Golgi-kleuring, kenmerkend voor van de thymus afgeleide lymfocyten (T-cellen), te beoordelen, wordt Sigma-Aldrich Procedurenr. 181 aanbevolen.

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

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

Analytische prestatiekenmerken

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

Cat. nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
3871	Naftol AS-BI-fosforzuuroplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3872	Fast garnet GBC-baseoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3873	Tartraatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3863	Acetaatoplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
914	Natriumnitrietoplossing	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
GHS3	Hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3	Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3

Waarschuwingen en gevaren

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

387A:



H290 Kan bijtend zijn voor metalen.

H302 Schadelijk bij inslikken.

H314 Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsels.

H350 Kan kanker veroorzaken.

H373 Kan bij inslikken schade aan organen (nieren) veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling.

P202 Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.

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

P301 + P312 NA INSLIKKEN: Bel een ANTIGIFCENTRUM/arts als u zich onwel voelt.

P303 + P361 + P353 BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water.

P304 + P340 + P310 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.

P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spoelen.

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

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

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

Referenties

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88-113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

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. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Referentienummer 5 verwijderd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP informatie toegevoegd.

	Sigma-Aldrich, Inc., 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany +1(314) 771-5765		MDSS GmbH Schiffgraben 41 30175 Hannover, Germany		Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany
	MDSS CH GmbH Laurenzenvorstadt 61 5000 Aarau Switzerland				

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 levkocitno kisl fosfatazo (TRAP)

Postopek št. 387



Predvidena uporaba

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

O uporabi substituiranih naftol AS fosfatov v povezavi z diazonijevimi solmi za odkrivanje kisle fosfataze v človeških levkocitih sta prva poročala Goldberg in Barka.¹ Postopek Sigma-Aldrich za dokazovanje tega encima uporablja naftol AS-BI fosfat in sveže diazotizirano hitrodeldujočo granatno sol Fast Garnet GBC. Slednja spojina je bila izbrana, ker se pri kisli vrednosti pH hitro spaja in tvori zelo netopne nanose barvila.

Pri večini postopkov, vključno s tistimi, ki jih ponuja Sigma-Aldrich, so uporabljene stabilne diazonijeve soli. Te nastanejo z reakcijo arilamina z natrijevim nitritom v kislem mediju.² Nastali diazonijev klorid (običajno nestabilen) se lahko nato obdela s spojinami, kot so cinkov klorid, cinkov sulfat ali naftalen-1,6-disulfonat, pri čemer nastanejo stabilne soli. Ti stabilizatorji lahko izrazito zavirajo nekatere encimske sisteme, medtem ko diazonijevi kloridi zavirajo manj.² Zato Sigma-Aldrich zdaj ponuja stabilno raztopino hitrodeldujoče granatne baze Fast Garnet GBC Base in natrijevega nitrita za citokemijo kisle fosfataze. Za dodatno poenostavitev te metode je vključena tudi stabilna vodna raztopina naftol AS-BI fosfata. Razpoložljivost teh stabilnih raztopin uporabnikom omogoča, da prilagodijo količino delovnega reagenta glede na potrebe, kar odpravlja odpadke.

V skladu s postopkom Sigma-Aldrich se krvni filmi inkubirajo v raztopini, ki vsebuje naftol AS-BI fosforno kislino in sveže diazotizirano hitrodeldujočo granatno sol Fast Garnet GBC. Dvojne filme je mogoče obdelati z raztopino, ki vsebuje L(+)-tartrat. Naftol AS-BI, ki se sprosti z encimsko hidrolizo, se takoj poveže s hitrodeldujočo granatno soljo Fast Garnet GBC in na lokacijah aktivnosti tvori netopna bordo barvila. Celice, ki vsebujejo proti vinski kislini občutljivo kisl fosfatazo, so brez aktivnosti. Na tiste mononuklearne celice, ki vsebujejo fosfatazo, odporno proti vinski kislini, takšno zdravljenje ne vpliva.

Reagenti

Raztopina naftol AS-BI fosforne kisline (kat. št. 3871-10ML)
Naftol AS-BI fosforna kislina, 12,5 mg/ml

Osnovna raztopina Fast Garnet GBC (kat. št. 3872-10ML)
Osnovna raztopina Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, v 0,4 mol/l klorovodikove kisline s stabilizatorjem. Nevarno. Zdravju škodljivo pri zaužitju. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzroči alergijski odziv kože. Lahko povzroči raka.

Raztopina acetata (kat. št. 3863-50ML)
Acetatni pufer, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Raztopina tartrata (kat. št. 3873-10ML)
L(+)-tartratni pufer, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Opozorilo. Povzroča blago draženje kože.

Raztopina natrijevega nitrita (kat. št. 914-10ML)
Natrijev nitrit, 0,1 mol/l

Raztopina citrata (kat. št. 915-50ML)
Citronska kislina, 18 mmol/l, natrijev citrat, 9 mmol/l, natrijev klorid, 12 mmol/l, in tenzid, pH 3,6 ± 0,1

Hematoksilinska raztopina Gill št. 3 (kat. št. GHS3-50ML)
Hematoksilin, certificiran, 6,0 g/l, C.I. 75290, natrijev jodat, 0,6 g/l, aluminijev sulfat, 52,8 g/l in stabilizatorji. Nevarno. Zdravju škodljivo pri zaužitju. Povzroča hude poškodbe oči. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno za oči/zaščitno za obraz.

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Aceton, reagent ACS
- Formaldehid, 37 %.

Shranjevanje in stabilnost

Raztopino hematoksilina hranite pri sobni temperaturi (18–26 °C). Zaščitite pred svetlobo. Na oznaki reagenta je naveden datum izteka roka uporabnosti.

Raztopino aftol AS-BI fosforne kisline, osnovno raztopino Fast Garnet GBC, raztopino acetata, raztopino tartrata, raztopino natrijevega nitrita in raztopino citrata shranjujte pri 2–8 °C.

Raztopino za fiksiranje shranjujte v hladilniku (2–8 °C). Pred uporabo segrejte na 18–26 °C. Obstočnost do 2 meseca, če je hranjeno trdno zaprto v hladilniku. Če opazite izhlapevanje, zavrzite raztopino za fiksiranje in pripravite novo.

Poslabšanje kakovosti

Raztopino naftol AS-BI fosforove kisline, raztopino tartrata je treba zavreči, če se pojavi motnost.

Raztopina citrata je primerna za uporabo v odsotnosti mikrobnosti rasti.

Raztopino hematoksilina je treba zavreči, če se raztopina obarva rjavo (prekomerna oksidacija zaradi zraka) ali vijolično (izguba kislosti).

Priprava

Reagenti so pripravljeni za uporabo.

Raztopino za fiksiranje pripravite z mešanjem 25 ml raztopine citrata, 65 ml acetona in 8 ml 37-odstotnega formaldehida. Prelijte v steklenico in jo trdno zaprite.

Predvidnostni ukrepi

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

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

Postopek

Zbiranje vzorcev

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

Uporabljajo se lahko kri, filmi kostnega mozga, tipalni preparati tkiva in preparati iz citocentrifuge. EDTA ali heparin sta antikoagulant. Filmii krvi ali kostnega mozga se lahko hranijo fiksirani pri sobni temperaturi (18–26 °C) več tednov ali nefiksirani več dni brez opazne spremembe aktivnosti.³ Polne krvi ne pošiljajte za testiranje v druge laboratorije. Pošljite fiksirana ali nefiksirana stekelca. Stekelca je treba med prevozom hraniti na hladnem. Pred fiksacijo pustite filme, da se sušijo vsaj 1 uro.

Opombe

Učinkovitost testa je treba spremljati z vključitvijo krvnega filma, pridobljenega pri zdravem posamezniku.

Postopek

1. Predhodno segrejte zadostno količino deionizirane vode za enodnevno uporabo na 37 °C. Pred uporabo preverite temperaturo.
2. Raztopino za fiksiranje segrejte na sobno temperaturo (18–26 °C). Stekelca fiksirajte tako, da jih za 30 sekund potopite v fiksirno raztopino. Temeljito sperite z deionizirano vodo: Ne dovolite, da se stekelca posušijo.
3. V vsako od 2 epruvet dodajte 0,5 ml osnovne raztopine Fast Garnet GBC in 0,5 ml raztopine natrijevega nitrita. Z nežnim obračanjem mešajte 30 sekund. Pustite stati 2 minuti.
4. Dve čaši s prostornino 100 ml označite kot A in B ter med mešanjem dodajte naslednje:

	Čaša A	Čaša B
Deionizirana voda, segreta na 37 °C	45 ml	45 ml
Diazotizirana raztopina Fast Garnet GBC (korak 3)	1,0 ml	1,0 ml
Naftol AS-BI fosfatna raztopina	0,5 ml	0,5 ml
Raztopina acetata	2,0 ml	2,0 ml
Raztopina tartrata	–	1,0 ml

5. Označite kozarce Coplin A in B ter prenesite raztopine iz čaš v ustrezne kozarce Coplin. Raztopine v kozarcih segrejte na 37 °C v vodni kopeli. Pred dodajanjem preparatov preverite, ali je temperatura 37 °C.
6. Stekelca dodajte v kozarce Coplin in jih 1 uro inkubirajte v vodni kopeli pri 37 °C, zaščiteni pred svetlobo.
7. Po 1 uri stekelca temeljito sperite v deionizirani vodi, nato jih 2 minuti kontrastno barvajte z raztopino hematoksilina, Gill št. 3.
8. Nekaj minut spirajte v alkalni vodi iz pipe, da jedra pomodrijo.
9. Osušite na zraku in mikroskopsko ocenite. Prekrivanje ni priporočljivo, saj barvilo sčasoma zbledi.

Značilnosti delovanja

Rezultati

Obarvani krvni filmi se običajno subjektivno ocenijo glede na prisotnost ali odsotnost encima, odprnega proti tartratu. Ob odsotnosti vinske kisline ima večina levkocitov znata mesta aktivnosti. Pri inkubaciji s tartratom lahko v limfocitih in nekaterih specializiranih makrofagih opazimo občasno granulo.⁴ V krvnih razmazih je pozitivna reakcija označena s prisotnostjo več kot dveh celic z razpršeno in intenzivno aktivnostjo, tj. več kot 40 granul.⁴ Za oceno barvanja po Golgiju, značilnega za limfocite iz timusa (celice T), se priporoča postopek Sigma-Aldrich št. 181.

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

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
3871	Raztopina naftol AS-BI fosforne kisline	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3872	Osnovna raztopina Fast Garnet GBC	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3873	Raztopina tartrata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3863	Raztopina acetata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
914	Raztopina 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
GHS3	Raztopina hematoksilina, Gill št. 3	Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Opozorila in nevarnosti

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

387A:



H290 Lahko je jedko za kovine.

H302 Zdravju škodljivo pri zaužitju.

H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

H350 Lahko povzroči raka.

H373 Pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti lahko ob zaužitju povzroči poškodbe organov (ledvice).

P202 Ne uporabljajte, dokler se ne seznanim z vsemi varnostnimi ukrepi.

P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.

P301 + P312 PRI ZAUŽITJU: Ob slabem počutju 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 + P310 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.

P305 + P351 + P338 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem.

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

Definicije simbolov

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

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

Reference

- Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297 1962
- Burstone MS: In Enzyme Histochemistry and Its Application in the Study of Neoplasms. Academic Press, New York, 1962, pp 88–113
- Janckila A, Li CY, et al: The Cytochemistry of the Tartrate-Resistant Acid Phosphatase – Technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
- Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119

Kontaktni podatki

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

Zgodovina revizij

Rev. 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. 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. Odstranjena je referenca 5. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodane so bile informacije o zastopniku v Švici.	



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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