

Sigma-Aldrich®

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.
- H317 May cause an allergic skin reaction.
- H350 May cause cancer.
- H373 May cause damage to organs (Kidney) through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- H402 Harmful to aquatic life.
- P201 Obtain special instructions before use.
- P202 Do not handle until all safety precautions have been read and understood.
- P234 Keep only in original container.
- P260 Do not breathe mist or vapors.
- P264 Wash skin thoroughly after handling.
- P270 Do not eat, drink or smoke when using this product.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P280 Wear protective gloves, protective clothing, eye protection and face protection.
- P301 + P 312 + P330 IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell. Rinse mouth.
- P301 + P330 + P331 IF SWALLOWED: Rinse mouth. Do NOT induce vomiting.
- P303 + P361 + P353 IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/ shower.
- P304 + P340 + P310 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P305 + P351 + P338 + P310 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P308 + P313 If exposed or concerned: Get medical advice/ attention.
- P333 + P313 If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/ attention.
- P362 +P364 Take off contaminated clothing and wash it before reuse
- P390 Absorb spillage to prevent material damage.
- P405 Store locked up.
- P406 Store in corrosive resistant container with a resistant inner liner.
- P501 Dispose of contents/ container to an approved waste disposal plant.

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 Immunocytochemistry 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](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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.	
Rev. 6.0	2025
Updated SDS information. Added CH Importer 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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Gebrauchsanweisung

Saure Phosphotase, Leukozyten (TRAP) – Kit

Verfahren Nr. 387



Verwendungszweck

Die saure Phosphotase-Kits von Sigma-Aldrich sind als allgemeine histologische Färbemittel für den Laborgebrauch bestimmt. Die Reagenzien für die saure Phosphatase sind für die professionelle „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Dieses manuelle, qualitative, histochemische Verfahren weist die Aktivität von saurer Phosphatase in Leukozyten aus menschlichem Blut, Knochenmarksausstrichen und Gewebepreparaten 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-Base, 7 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 allergische Hautreaktionen verursachen. Kann Krebs verursachen.

Acetatlösung (Kat.-Nr. 3863-50ML)

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

Tartratlösung (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

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 Reagenz 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 Labormaterialien 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, Gewebepufferpräparate und Zytocentrifugenpräparate verwendet werden. Als Antikoagulantien 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.

Hinweise

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 Verwendung 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.

Art.-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.
- H317 Kann eine allergische Reaktion der Haut verursachen.
- H350 Kann Krebs erzeugen.
- H373 Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe (Niere) schädigen.
- H402 Schädlich für Wasserorganismen.
- P201 Informieren Sie sich über besondere Hinweise zur Verwendung.
- P202 Nicht handhaben, bevor Sie nicht alle Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben.
- P234 Nur in Originalbehälter aufbewahren.
- P260 Nebel oder Dämpfe nicht einatmen.
- P264 Nach der Handhabung die Haut gründlich waschen.
- P270 Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augenschutz und Gesichtsschutz.
- P301 + P312 + P330 BEI VERSCHLUCKEN: Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen. Mund ausspülen.
- P301 + P330 + P331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.
- P303 + P361 + P353 BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Die Haut mit Wasser abspülen/duschen.
- P304 + P340 + P310 BEI 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 + P310 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter spülen. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P308 + P313 Bei Exposition oder Bedenken: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P333 + P313 Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
- P362 +P364 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen
- P390 Nehmen Sie verschüttete Flüssigkeiten auf, um Materialschäden zu vermeiden.
- P405 Unter Verschluss aufbewahren.
- P406 In korrosionsbeständigem Behälter mit widerstandsfähiger Innenbeschichtung aufbewahren.
- P501 Den Inhalt/Behälter bei einer zugelassenen Abfallentsorgungsstelle entsorgen.

Wenn während der Verwendung dieses Produkts 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		In-vitro-Diagnostikum
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
	Bezeichnet den Bevollmächtigten in der Schweiz.		

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
- 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

Kontaktinformationen

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

Revisionshistorie

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. 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. Die Informationen des Bevollmächtigten in der Schweiz wurden hinzugefügt.	
Rev. 6.0	2025
SDS-Informationen wurden aktualisiert. Die Informationen des Importeurs in der Schweiz 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

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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.

Sigma-Aldrich®

Instructions d'utilisation

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 histochemie 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 naphтол AS-BI 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 Barka¹. La procédure de Sigma-Aldrich pour la mise en évidence de cette enzyme utilise le phosphate de naphтол 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 acide². 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 inhibiteurs³. 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 naphтол 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 naphтол 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 naphтол 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 naphтол AS-BI-acide phosphorique (réf. 3871-10ML)

Naphтол 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

Citrate Solution (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 naphтол 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 naphтол 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 tissus doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Il est possible d'utiliser des frottis sanguins ou médullaires, des empreintes tissulaires et des préparations obtenues par cyto centrifugation. L'EDTA ou l'héparine serviront d'anticoagulants. Les frottis sanguins ou médullaires peuvent être conservés fixés à température ambiante (entre 18 et 26 °C) pendant plusieurs semaines ou non fixés pendant plusieurs jours sans aucun changement notable de l'activité⁴. 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

1. Préchauffer suffisamment d'eau désionisée à 37 °C pour une journée d'utilisation. Vérifier la température avant utilisation.
2. 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 désionisée : ne pas laisser les lames sécher.
3. 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.
4. Étiqueter deux béchers de 100 ml A et B et ajouter les éléments suivants tout en mélangeant :

	Bécher A	Bécher B
Eau désionisée 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 naphтол AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Solution d'acétate	2,0 ml	2,0 ml
Solution de tartrate	—	1,0 ml

5. 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.
6. Ajouter les lames dans les cuves à coloration de Coplin et laisser incubé pendant 1 heure au bain-marie à 37 °C à l'abri de la lumière.
7. Au bout d'une (1) heure, rincer soigneusement les lames à l'eau désionisée, puis contre-colorer dans la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 pendant 2 minutes.
8. Rincer plusieurs minutes dans de l'eau de ville alcaline pour rendre les noyaux bleus.
9. 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 spécialisés⁴. 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 granulations⁴. 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 naphtol 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.
- H317 Peut provoquer une allergie cutanée.
- 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.
- H402 Nocif pour les organismes aquatiques.
- P201 Se procurer les instructions avant utilisation.
- P202 Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
- P234 Conserver uniquement dans le récipient d'origine.
- P260 Ne pas respirer les brouillards ou les vapeurs.
- P264 Se laver la peau soigneusement après manipulation.
- P270 Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.
- P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P280 Porter des gants de protection, des vêtements de protection et un équipement de protection des yeux et du visage.
- P301 + P 312 + P330 EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. Rincer la bouche.
- P301 + P330 + P331 EN CAS D'INGESTION : rincer la bouche. NE PAS faire vomir.
- 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/se doucher.
- 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 + P310 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. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P308 + P313 En cas d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
- P333 + P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.
- P362 +P364 Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation
- P390 Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants.
- P405 Garder sous clé.
- P406 Stocker dans un récipient résistant à la corrosion avec doublure intérieure résistant à la corrosion.
- P501 Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.

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
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic <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 Immunochemistry 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 mandataire suisse (CH-REP).
Rév. 6.0	2025
	Mise à jour des informations de la fiche de données de sécurité. Ajout des informations sur l'importateur 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



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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 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 riservati esclusivamente all'uso diagnostico *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.³ 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)

Base Fast garnet GBC 7,0 mg/ml, C.I. 11160, in acido cloridrico 0,4 mol/L con stabilizzante. Pericolo. Nociva se ingerita. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Può provocare il cancro.

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

Tampone di 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.

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. Nociva se ingerita. 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 la 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, combinare 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 all'uso diagnostico *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 di midollo osseo possono essere conservati fissati a temperatura ambiente (18-26 °C) per diverse settimane o non fissati per diversi giorni senza che si verifichino considerevoli variazioni nell'attività.³ Non spedire sangue intero da analizzare ad altri laboratori. Inviare vetrini fissati o non fissati. Conservare i vetrini in borsa termica durante il trasporto. Lasciare asciugare i vetrini per almeno 1 ora prima della fissazione.

Note

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

Procedura

1. Preriscaldare a 37 °C una quantità di acqua deionizzata sufficiente per l'uso giornaliero. 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. Aggiungere a ciascuna delle 2 provette 0,5 ml di soluzione di Fast Garnet GBC Base e 0,5 ml di soluzione di nitrito di sodio. Miscelare capovolgendo delicatamente per 30 secondi. Lasciare riposare per 2 minuti.
4. Applicare due etichette recanti ciascuna le lettere A e B sui due becher da 100 ml e aggiungere quanto segue miscelando:

	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 in acqua deionizzata, quindi controcolorare per 2 minuti con 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, è possibile osservare occasionalmente la presenza di un granulo nei linfociti e in alcuni macrofagi specifici.⁴ Negli strisci ematici, una reazione positiva è indicata dalla presenza di più di due cellule con attività diffusa e intensa, cioè oltre 40 granuli.⁴ Per valutare la colorazione di Golgi, caratteristica dei linfociti derivati dal timo (cellule T), si consiglia la procedura Sigma-Aldrich n. 181.

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 ematosilina 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.
- H317 Può provocare una reazione allergica cutanea.
- H350 Può provocare il cancro.
- H373 Può provocare danni agli organi (reni) in caso di esposizione prolungata o ripetuta, se ingerito.
- H402 Nocivo per gli organismi acquatici.
- P201 Procurarsi le istruzioni prima dell'uso.
- P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza.
- P234 Conservare soltanto nel contenitore originale.
- P260 Non respirare la nebbia o i vapori.
- P264 Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso.
- P270 Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso di questo prodotto.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi e il viso.
- P301 + P312 + P330 IN CASO DI INGESTIONE: in presenza di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. Sciagquare la bocca.
- P301 + P330 + P331 IN CASO DI INGESTIONE: Sciagquare la bocca. NON provocare il vomito.
- P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciagquare la pelle con acqua / fare una doccia.
- 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 + P310 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. contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P308 + P313 In caso di esposizione o di possibile esposizione, contattare un medico.
- P333 + P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: contattare un medico.
- P362 +P364 Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
- P390 Assorbire la fuoriuscita per evitare danni materiali.
- P405 Conservare sotto chiave.
- P406 Conservare in recipiente resistente alla corrosione provvisto di rivestimento interno resistente.
- P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento dei rifiuti approvato.

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
	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea		Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza		Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
	Indica il rappresentante autorizzato 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
- Jancikla 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 di informazioni su CH-REP.	
Rev. 6.0	2025
Informazioni SDS aggiornate. Aggiunte informazioni sull'importatore per la 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



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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 nitrito 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 nitrito de sodio para la citoquímica 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 alérgica en la piel. Puede provocar cáncer.

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

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

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

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

Solución de nitrito de sodio (n.º de cat. 914-10ML)

Nitrito de sodio, 0,1 mol

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 y tensioactivo, pH 3,6 ± 0,1

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

Hematoxilina, certificada, 6,0 g/l, C.I. 75290, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l y estabilizadores. 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 nitrito de sodio y la solución de citrato a 2-8 °C.

Almacenar la solución fijadora refrigerada (2-8 °C). Calentar a 18-26 °C antes de usar. Estable hasta 2 meses, si se almacena bien tapada 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 puede utilizar los DMDIV de Sigma-Aldrich 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 procedentes de una persona sana.

Procedimiento

1. Precalentar suficiente agua desionizada para un día de uso a 37 °C. Comprobar la temperatura antes del uso.
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 nitrito 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 diazotizada (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 azular 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 incubaba con tartrato, puede observarse un gránulo ocasional en los linfocitos y en algunos macrófagos especializados.⁴ En las extensiones 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	Naftol AS-BI, solución de ácido fosfórico	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 nitrito de sodio	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
915	Solución de citrato	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
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.

387 A:



- H290 Puede ser corrosivo para los metales.
- H302 Nocivo en caso de ingestión.
- H314 Provoca graves quemaduras en la piel y lesiones oculares.
- H317 Puede provocar una reacción cutánea alérgica.
- H350 Puede provocar cáncer.
- H373 Puede provocar daños en los órganos (riñón) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.
- H402 Nocivo para los organismos acuáticos.
- P201 Procurarse las instrucciones antes del uso.
- P202 No manipular antes de haber leído y comprendido todas las precauciones de seguridad.
- P234 Conservar únicamente en el embalaje original.
- P260 No respirar nieblas ni vapores.
- P264 Lavarse cuidadosamente la piel después de la manipulación.
- P270 No comer, beber o fumar mientras se manipula este producto.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos y la cara.
- P301 + P 312 + P330 EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si la persona no se encuentra bien. Enjuagarse la boca.
- P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito.
- P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua/ 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 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P308 + P313 En caso de exposición demostrada o supuesta: consultar a un médico.
- P333 + P313 En caso de irritación cutánea o sarpullido: consultar a un médico.
- P362 +P364 Quitar la ropa contaminada y lavarla antes de volverla a usar.
- P390 Absorber el vertido para prevenir daños materiales.
- P405 Guardar bajo llave.
- P406 Almacenar en un recipiente resistente a la corrosión con revestimiento interior resistente.
- P501 Eliminar el contenido/recipiente en una planta de eliminación de desechos aprobada.

Si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se produce un incidente grave, informe de ello 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 <i>in vitro</i>)
	Fecha de caducidad		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
	Indica el 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](https://www.sigmaaldrich.com). Para solicitar el Servicio Técnico, visite la página de servicio técnico en nuestro sitio web en [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historial de revisiones

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Transferido a la nueva plantilla con la marca actual. Especificado para uso profesional en uso previsto y precauciones. Se ha 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. Se ha añadido la información del representante de Suiza.
Rev. 6.0	2025
	Se ha actualizado la información de hoja de datos de seguridad (SDS). Se ha añadido la información del importador de Suiza.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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. Tiene a su disposición información detallada sobre las marcas comerciales a través de recursos accesibles al público.

Brugsanvisning

Sur fosfatase-sæt (TRAP) til leukocytter

Procedure nr. 387



Tilsigtet brug

Sigma-Aldrich Acid Phosphatase-sæt er beregnet som en histologisk farvning til almindelig laboratoriebrug. Sur fosfatase-reagenser er udelukkende beregnet til professionel "in vitro-diagnostisk brug". Denne manuelle, kvalitative, histokemiske procedure påviser sur fosfatase-aktivitet i leukocyttet 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 farveaflejringer.

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 udføre 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 arbejdsreagensvolumen 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 farveaflejringer på aktivtetsstederne. Cellen, der indeholder vinsyre-følsom sur fosfatase, er blottet for aktivitet. De mononukleære celler, 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, C.I. 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, natriumklorid, 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, C.I. 75290, natriumiodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisatorer. Fare. Farlig ved indtagelse. Forårsager alvorlig øjenskade. Bær beskyttelseshandsker/øjensbeskyttelse/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 lukket opbevaring i køleskab. Bortskaft 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).

Klargøring

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 kvalificeret personales professionelle brug. 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. Bortskaft affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

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 før brug.
2. Bring fiksativopløsningen til stuetemperatur (18-26 °C). Fiksér 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 objektglas 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 dækglas 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 aktivtetssteder. Når der inkuberes med tartrat, kan en lejlighedsvis granulum observeres i lymfocytter 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.

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

Kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for at få hjælp, hvis de observerede resultater afviger fra de forventede resultater.

Analytiske præstationskarakteristika

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

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	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.
- H317 Kan forårsage allergisk hudreaktion.
- H350 Kan fremkalde kræft.
- H373 Kan forårsage organskader (nyrer) ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.
- H402 Skadelig for vandlevende organismer.
- P201 Indhent særlige anvisninger før brug.
- P202 Anvend ikke produktet, før alle advarsler er læst og forstået.
- P234 Opbevares kun i den originale beholder.
- P260 Indånd ikke tåge eller dampe.
- P264 Vask huden grundigt efter brug.
- P270 Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P301 + P312 + P330 I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Kontakt GIFTLINJEN/en læge i tilfælde af ubehag. Skyl munden.
- P301 + P330 + P331 I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning.
- P303 + P361 + P353 VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl/brus 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 GIFTLINJEN/en læge.
- P305 + P351 + P338 + P310 VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis de er til stede og er lette at fjerne. Fortsæt med at skylle. Ring omgående til GIFTLINJEN/en læge.
- P308 + P313 VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.
- P333 + P313 Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp.
- P362 + P364 Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen.
- P390 Absorber udslip for at undgå materielskade.
- P405 Opbevares under lås.
- P406 Opbevares i ætsningsbestandig beholder med modstandsdygtig indvendig belægning.
- P501 Indholdet/beholderen bortskaffes på et godkendt affaldsanlæg.

Hvis der er opstået en alvorlig hændelse under brugen af denne enhed eller som følge af dens 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 <i>in vitro</i> -diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
	Angiver den autoriserede 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
- Jancikla 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 stemme overens med 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 CH-REP-oplysninger.
Rev. 6.0	2025
	Opdateret SDS-oplysninger. Tilføjet oplysninger om CH-importør.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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.

Bruksanvisning

Leukocytsyrafosfatas-sats (TRAP)

Förfarande nr. 387



Avsedd användning

Sigma-Aldrich syrafosfatas-satser är avsedda som histologisk färgning för allmän laboratorieanvändning. Syrafosfatasreagenser är endast avsedda för yrkesmässig "In Vitro-diagnostik". 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 enzymsystem, 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 arbetsreagensvolymerna efter behov, vilket eliminerar slöseri.

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 vinsyreresistent fosfatas påverkas inte av sådan behandling.

Reagenser

Naftol-AS-BI-fosforsyralösning (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, C.I. 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

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

Hematoxylinlösning, Gill nr 3 (kat.nr GHS3-50ML)
Certifierat hematoxylin, 6,0 g/l, C.I. 75290 natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l och 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 reagensetiketterna.

Förvara naftol-AS-BI-fosforsyralösning, 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 åtsittande lock i kylskåp. Kassera fixeringslösning om avdunstning noteras och förbered färsk.

Försämring

Naftol-AS-BI-fosforsyralösning, 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.

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

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

Förfarande

Provtagning

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

Blod, benmärgsfilmer, "touch"- vävnadspreparat och cytoentrifugpreparat 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 på andra laboratorier. Skicka fixerade eller ofixerade objektglas. Objektglasen 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 objektglasen genom att doppa i fixeringslösning i 30 sekunder. Skölj ordentligt i avjoniserat vatten. Låt inte objektglasen torka.
3. Till vart och ett av två provrör tillsätter du 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. Efter 1 timme sköljer du objektglasen noggrant i avjoniserat vatten och motfärgar sedan 2 minuter i hematoxylinlösning, Gill nr 3.
8. Skölj flera minuter i alkaliskt kränvatten 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 granulär observeras i lymfocyter och vissa specialiserade makrofager.⁴ I blodutstryk betecknas en positiv reaktion med förekomst av mer än två celler med diffus och intensiv aktivitet, dvs. mer än 40 granulär.⁴ För att utvärdera Golgi-färgning, som är karakteristisk för tymuslymfocyter (T-celler), rekommenderas Sigma-Aldrichs förfarande nr 181.

Surt fosfataseaktivitet uppträder som lila till mörkröda granulär 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.	Produkt-beskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3871	Naftol-AS-BI-fosfor-syralösning	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.
- H317 Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
- H350 Kan orsaka cancer.
- H373 Kan orsaka skador på organ (njurar) genom långvarig eller upprepade exponering vid förtäring.
- H402 Skadligt för vattenlevande organismer.
- P201 Inhämta särskilda instruktioner före användning.
- P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förstås.
- P234 Förvara endast i originalförpackningen.
- P260 Inandas inte dimma/ångor.
- P264 Tvätta huden noggrant efter hantering.
- P270 Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P301 + P312 + P330 VID FÖRTÄRING: Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt. Skölj munnen.
- P301 + P330 + P331 VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning.
- P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (eller hår): Ta omedelbart av alla kontaminerade kläder. Skölj huden med vatten/duscha.
- P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas bekvämt. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P305 + P351 + P338 + P310 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P308 + P313 Vid exponering eller misstanke om exponering: Uppsök läkare.
- P333 + P313 Vid hudirritation eller utslag: Uppsök läkare.
- P362 + P364 Ta av nedstänkta kläder och tvätta dem innan de används igen.
- P390 Sug upp spill för att undvika materiella skador.
- P405 Förvaras inlåst.
- P406 Förvaras i korrosionsbeständig behållare med beständigt innerhölje.
- P501 Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

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 <i>in vitro</i> -diagnostik
	Temperaturgräns		Försiktighet
	Tillverkningsdatum		Importör
	Anger den auktoriserade representanten 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, 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

Kontaktuppgifter

För att göra en beställning besöker du vår webbplats på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). För teknisk service besöker du sidan för teknisk service på vår webbplats [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revisionshistorik

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Användningsområde" 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 CH-REP-information.
Rev. 6.0	2025
	Uppdaterat SDS-informationen. Lagt till CH-importörsinformation.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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.

© 2025 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 exclusivamente 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 diazotizada. 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 citotóxica 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 ácido clorídrico a 0,4 mol/l com estabilizador. Perigo. Nocivo por ingestão. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. 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

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. Iodato de sódio 75290, 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 enviar 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 água desionizada suficiente para utilizar durante um dia até uma temperatura de 37 °C. Verificar a temperatura antes da utilização.
2. Levar 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	Especi-ficidade intraensaio	Sensibili-dade intraensaio	Especifi-dade interensaio	Sensibili-dade 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

Advertências 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.
- H317 Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
- H350 Pode provocar cancro.
- H373 Pode afetar os órgãos (Rins) após exposição prolongada ou repetida em caso de ingestão.
- H402 Nocivo para os organismos aquáticos.
- P201 Pedir instruções específicas antes da utilização.
- P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.
- P234 Manter sempre o produto na embalagem original.
- P260 Não respirar as névoas/vapores.
- P264 Lavar a pele cuidadosamente após manuseamento.
- P270 Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
- P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P280 Usar luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular e proteção facial.
- P301 + P312 + P330 EM CASO DE INGESTÃO: Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. Enxaguar a boca.
- P301 + P330 + P331 EM CASO DE INGESTÃO: Enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.
- P303 + P361 + P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar banho.
- 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 + P310 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P308 + P313 Em caso de exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico.
- P333 + P313 Em caso de irritação ou erupção cutânea: Consulte um médico.
- P362 + P364 Retirar a roupa contaminada. Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar
- P390 Absorver o produto derramado a fim de evitar danos materiais.
- P405 Armazenar num local fechado à chave.
- P406 Armazenar num recipiente resistente a corrosão com um revestimento interior resistente.
- P501 Eliminar o conteúdo/recipiente numa estação de eliminação de resíduos aprovada.

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 <i>in vitro</i>
	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. Para Assistência técnica, visite a página de assistência técnica no nosso site 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. Adição das informações CH-REP.	
Rev. 6.0	2025
Atualização das informações SDS. Adição das informações do importador da CH.	



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



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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.

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».

Η χρήση υποκατεστημένης φωσφορικής ναφθόλης AS σε συνδυασμό με άλατα διαζωνίου για την ανίχνευση της όξινης φωσφατάσης σε ανθρώπινα λευκοκύτταρα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τους Goldberg και Barka.

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.

Σύμφωνα με τη διαδικασία της Sigma-Aldrich, τα φιλμ αίματος επωάζονται σε διάλυμα που περιέχει ναφθόλη 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. Η ναφθόλη AS-BI, που απελευθερώνεται με ενζυματική υδρόλυση, πραγματοποιεί αμέσως σύζευξη με το fast garnet GBC, σχηματίζοντας αδιάλυτες εναποθέσεις καστανής χρωστικής στα σημεία δραστηριότητας.

Αντιδραστήρια

Διάλυμα ναφθόλης AS-BI - φωσφορικού οξέος (Αρ. καταλόγου 3871-10ML)
Ναφθόλη AS-BI - φωσφορικό οξύ, 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 υδροχλωρικό οξύ 0,4 mol/L 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

Διάλυμα κιτρικού (Αρ. καταλόγου 915-50ML)
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
- Φορμαλδεΰδη, 37%

Φύλαξη και σταθερότητα

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

Φυλάσσετε το διάλυμα ναφθόλης 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 ναφθόλης AS-BI - φωσφορικού οξέος και το τρυγικό διάλυμα θα πρέπει να απορρίπτονται εάν αναπτυχθεί θολερότητα.

Το κιτρικό διάλυμα είναι κατάλληλο για χρήση απουσία μικροβιακής ανάπτυξης.

Το διάλυμα αιματοξυλίνης θα πρέπει να απορρίπτεται αν γίνει καφέ (υπεροξειδωση από τον αέρα) ή μοβ (απάθεια οξύτητας).

Παρασκευή

Τα αντιδραστήρια παρέχονται έτοιμα για χρήση.

Παρασκευάστε μονιμοποιητικό διάλυμα, συνδυάζοντας 25 mL κιτρικού διαλύματος, 65 mL ακετόνης και 8 mL φορμαλδεΰδης 37%. Τοποθετήστε σε ψυάλην 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 μικροσκόπιο.

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνήθειες προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

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

Σημειώσεις

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

Διαδικασία

- 1. Προθερμάνετε αρκετό αποιονισμένο νερό για χρήση μίας ημέρας στους 37 °C. Ελέγξτε τη θερμοκρασία πριν από τη χρήση.
- 2. Φέρτε το μονιμοποιητικό διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους με εμβάπτιση 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. Επιστημόντες ως 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 φωσφορικής ναφθόλης AS-BI	0,5 mL	0,5 mL
Οξικό διάλυμα	2,0 mL	2,0 mL
Τρυγικό διάλυμα	—	1,0 mL

- 5. Επιστημόντες 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.

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

Εάν τα παρατηρούμενα αποτελέσματα διαφέρουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την τεχνική εξυπηρέτηση 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. κα-ταλό-γου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
3871	Διάλυμα ναφθόλης AS-B1 - φωσφορικού οξέος	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3872	Διάλυμα βάσης Fast Garnet GBC	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3873	Τρυγικό διάλυμα	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3863	Οξικό διάλυμα	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
914	Διάλυμα νιτρώδους νατρίου	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
915	Κιτρικό διάλυμα	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
GHS3	Διάλυμα αιματοξυλι-νης, 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 οποιοδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφαλείας.

387A:



- H290 Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.
- H302 Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης.
- H314 Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες.
- H317 Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
- H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.
- H373 Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα (νεφροί) ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.
- H402 Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς.
- P201 Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.
- P202 Μην το χρησιμοποιήσετε πριν διαβάσετε και κατανοήσετε τις οδηγίες προφύλαξης.
- P234 Να διατηρείται μόνο στον αρχικό περιέκτη.
- P260 Μην αναπνέετε σταγονίδια ή ατμούς.
- P264 Πλύνετε την επιδερμίδα σχολαστικά μετά τον χειρισμό.
- P270 Μην τρώτε, πίνετε ή καπνίζετε, όταν χρησιμοποιείτε αυτό το προϊόν.
- P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.
- P280 Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια και το πρόσωπο.
- P301 + P312 + P330 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό, αν αισθανθείτε αδιαθεσία. Ξεπλύνετε το στόμα.
- P301 + P330 + P331 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Ξεπλύνετε το στόμα. ΜΗΝ προκαλέσετε εμετό.
- P303 + P361 + P353 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Βγάλτε αμέσως όλα τα μολυσμένα ρούχα. Ξεπλύνετε την επιδερμίδα με νερό/στο ντους.
- 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 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εάν είναι εύκολο. Συνεχίστε την έκπλυση. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.
- P308 + P313 Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.
- P333 + P313 Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.
- P362 +P364 Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετέ τα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε
- P390 Σκουπίστε τη χυμένη ποσότητα για να προλάβετε υλικές ζημιές.
- P405 Φυλάσσεται κλειδωμένο.
- P406 Αποθηκεύεται σε ανθεκτικό στη διάβρωση περιέκτη με ανθεκτική εσωτερική επένδυση.
- P501 Διάθεση του περιεχομένου/περιέκτη σε εγκεκριμένη μονάδα διάθεσης απορριμμάτων.

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		<i>in vitro</i> 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
- Jancikla 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, επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Για την 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 ανειδίκευτα συμβάντα. Αφαιρέθηκε η βιβλιογραφική αναφορά 5. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν τα στοιχεία του εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου στην Ελβετία (CH-REP).
Avaθ. 6.0	2025	Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες SDS. Προστέθηκαν τα στοιχεία του εισαγωγέα στην Ελβετία (CH).

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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

Használati utasítás

Leukocita savas foszfatáz (TRAP) készlet

387. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

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

A szubsztituált naftol-AS-foszfatáz diazóniumsókkal együtt, a savas foszfatáz humán leukocitákban történő kimutatására szolgáló alkalmazásáról elsőként Goldberg és Barka számoltak be.¹ A Sigma-Aldrich ezen szint kimutatására szolgáló eljárása naftol-AS-BI-foszfatát és frissen diazotált Fast Garnet GBC söt alkalmas. Ezen utóbbi 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 diazóniumsókát 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 fejthetnek 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 foszfatáz kimutatását célzó citokémiai vizsgálatokhoz. A módszer további egyszerűsítése érdekében a rendszer tartalmaz egy stabil, naftol-AS-BI-foszfatát tartalmazó éves 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 foszfatáz tartalmazó sejtekben nem tapasztalható aktivitás. Ez a kezelés nem érinti a borkósavrezisztens foszfatáz tartalmazó mononukleáris sejteket.

Reagens

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, sósavban (0,4 mol/l), 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.

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

Hematoxilinoldat, Gill III (kat. sz.: GHS3-50ML)

Hematoxilin (tanúsított), 6,0 g/l, C.I. 75290; nátrium-jodát, 0,6 g/l; alumínium-szulfát, 52,8 g/l és stabilizálószerrel 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 hematoxilinoldatot szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. Fénytől védve tárolandó. A lejáratí idő a reagenscímkén szerepel.

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

A rögzítőoldat 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 rögzítőoldatot, 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 hematoxilinoldatot, ha az oldat megbarnul (túloxidálódott a levegőn) vagy lilává válik (savasság elvesztése).

Előkészítés

A reagens használatra készek.

A rögzítőoldat 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 szűrőruhával és látáselességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

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

Eljárás

Mintavétel

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

Vér-, csontvelőkenetek, szövetlenyomat-preparátumok és sejtcentrifugálással nyert minták használndók. 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). Rögzítse a tárgylemezeket 30 másodpercig a rögzítőoldatba 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-foszfatát 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 hematoxilinoldatban (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 foszfatáz 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 célsztruktúrán vizsgálva 100% érzékenységű, specificitást és ismételhetőséget igazoltak.

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	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	Hematoxilinoldat, 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.
- H317 Allergiás bőrreakciót válthat ki.
- H350 Rákot okozhat.
- H373 Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket (vese).
- H402 Ártalmas a vízi élővilágra.
- P201 Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
- P202 Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
- P234 Az eredeti tartályban tartandó.
- P260 Ne lélegezze be a párárt vagy gőzöket.
- P264 A használatot követően a bőrt alaposan meg kell mosni.
- P270 A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni.
- P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
- P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő és arcvédő használata kötelező.
- P301 + P 312 + P330 LENYELÉS ESETÉN: Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. A száját ki kell öblíteni.
- P301 + P330 + P331 LENYELÉS ESETÉN: A száját ki kell öblíteni. TILOS hánytatni.
- P303 + P361 + P353 HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel [vagy zuhanyozás].
- 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 + P310 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Folytassa az öblítést. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.
- P308 + P313 Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni.
- P333 + P313 Bőrirritáció vagy -kiütés esetén: Orvosi ellátást kell kérni.
- P362 + P364 A szennyezett ruhát le kell vetni és az újbóli használat előtt ki kell mosni
- P390 A kiömlött anyagot fel kell itatni a körülvevő anyagok károsodásának megelőzése érdekében.
- P405 Elzárva tárolandó.
- P406 Saválló/saválló béléshű edényben tárolandó.
- P501 A tartalmat/edényt engedéllyel rendelkező hulladékkezelő üzembn kell ártalmatlanítani.

Ha az eszköz használata során vagy annak használata következtében súlyos váratlan esemény 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
	Meghatalmazott képviselő Svájcban		

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
- Jancikla 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 leadáshoz látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com](#). Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: [SigmaAldrich.com/techservice](#).

Változtatási előzmények

3.0 vált.	2014
4.0 vált.	2016
5.0 vált.	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. CH-REP információk hozzáadása.	
6.0 vált.	2025
SDS információk frissítése. CH importőri információk hozzáadása.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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

Souprava leukocytární acidické fosfatázy (TRAP)

Postup č. 387



Určené použití

Soupravy Sigma-Aldrich acidická fosfatáza jsou určeny pro obecné laboratorní použití jako histologické barvivo. Činidla acidické fosfatázy jsou určena 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. Histologická vizualizace acidické fosfatázy asociované s leukocyty je unikátní technikou, která se v současnosti v medicíně běžně používá.

Použití substituovaných naftol AS fosfátů ve spojení s diazoniovými solemi pro detekci kyselých fosfatáz v lidských leukocytech bylo poprvé zmíněno Goldbergem a Barkou.¹ Postup společnosti Sigma-Aldrich pro prokázání tohoto enzymu 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 společnosti 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 kyselině chlorovodíkové, 0,4 mol/l, se stabilizátorem. Nebezpečí. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Může způsobit rakovinu.

Roztok acetalátu (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

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 / ochranné brýle / obličejový štít.

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 acetalátu, 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 uchováván 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 antikoagulační 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 ztelné změny aktivity.³ Neposílejte plnou krev k analýze od 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

- Předehejte dostatečné množství deionizované vody pro celodenní použití na teplotu 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 předeheťatá 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 vykazuje většina leukocytů zrnitá místa aktivity. Při inkubaci ve vinanu mohou být občas pozorovány granule v lymfocytech a některých specializovaných makrofázích.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 nebezpečí

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.

H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H350 Může způsobit rakovinu.

H373 Může způsobit poškození orgánů (ledviny) při prodloužené nebo opakované expozici při požití.

H412 Škodlivý pro vodní organismy.

P201 Před použitím si přečtěte zvláštní návod.

P202 Nemanipulujte, dokud si nepřečtete a neporozumíte všem bezpečnostním opatřením.

P234 Uchovávejte pouze v původní nádobě.

P260 Nevdechujte mlhu či výpary.

P264 Po manipulaci si důkladně omyjte pokožku.

P270 Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte.

P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.

P280 Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv, ochranu očí a ochranu obličeje.

P301 + P 312 + P330 PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. Vypláchněte ústa.

P301 + P330 + P331 PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.

P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Okamžitě si svlékněte všechny kontaminované oděvy. Opláchněte kůži vodou/osprchujte.

P304 + P340 + P310 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.

P305 + P351 + P338 + P310 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře.

P308 + P313 Při expozici nebo znepokojení: Vyhledejte lékařskou pomoc.

P333 + P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc.

P362 +P364 Svlekněte kontaminovaný oděv a před dalším použitím jej vyperte.

P390 Absorbujte rozlité tekutiny, abyste zabránili poškození materiálu.

P405 Skladujte uzamčené.

P406 Skladujte v nádobě odolné proti korozi s odolnou vnitřní vložkou.

P501 Odstraňte obsah/kontejner a odevzdejte jej schválenému středisku pro likvidaci odpadu.

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

Definice symbolů

Symboly 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 <i>in vitro</i>
	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://www.sigmaaldrich.com). Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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 o zastoupení ve Švýcarsku.	
Rev. 6.0	2025
Aktualizované informace z bezpečnostního listu. Přidány informace o dovozci ve Švýcarsku.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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.

Bruksanvisning

Leukocyte Acid Phosphatase (TRAP) Kit

Prosedyre nr. 387



Tiltenkt bruk

Sigma-Aldrich Acid Phosphatase kit er ment å være en generell histologisk fargeløsning for bruk i et laboratorium. Syrefosfatase-reagenser er kun for profesjonell «*in vitro*-diagnostisk bruk». Denne manuelle, kvantitative og histokjemiske prosedyren demonstrerer syrefosfataseaktivitet i leukocytter i menneskeblod, benmargsfilmer eller vevsberøringsavtrykk. Histologisk visualisering av 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 leukocytter 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 u løselige 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.³ 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, frissatt ved bruk av enzymatisk hydrolyse, kobles umiddelbart til Fast Garnet GBC og danner uoppløselige avleiringer av burgunderrødt fargestoff på steder med aktivitet. Celler som inneholder vinsyresensitiv sur fosfatase, har ingen aktivitet. De mononukleære cellene som inneholder vinsyreresistent 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 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

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).

Klargjøring

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 laboratorieutstyr, og som har fargeoppfatning og synsskarphet for å skille farger og andre elementer under et mikroskop.

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

Prosedyre

Prøvetaking

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

Blod, benmargsfilmer, vevsberøringsavtrykk og cytosentrifugepreparater kan brukes. Enten EDTA eller heparin fungerer som antikoagulanter. Blod- eller benmargsfilmer kan oppbevares fiksert i romtemperatur (18–26 °C) i flere uker eller ufiksert i flere dager uten merkbart 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. Romtemperer (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 2 testrør tilsettes 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 skylles objektglassene grundig i avionisert vann, og kontrastfarges 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 leukocytter granulære aktivitetssteder. Ved inkubasjon med tartrat kan en og annen granul observeres i lymfocytter og noen spesialiserte makrofager.⁴ I blodutstryk er en positiv reaksjon angitt ved tilstedeværelse av mer enn to celler med diffus og intens aktivitet, dvs. mer enn 40 granuler.⁴ 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 leukocytter.

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt Sigma-Aldrichs tekniske service for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelsesresultatene for de gitte testene som ble 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.
- H317 Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
- H350 Kan forårsake kreft.
- H373 Kan forårsake organskader (nyrer) ved langvarig eller gjentatt eksponering.
- H402 Skadelig for liv i vann.
- P201 Innhent særskilt instruks før bruk.
- P202 Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.
- P234 Oppbevares bare i originalemballasjen.
- P260 Ikke innånd tåke eller damp.
- P264 Vask huden grundig etter bruk.
- P270 Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av dette produktet.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
- P280 Benytt vernehansker, verneklær, øyevern og ansiktsvern.
- P301 + P312 + P330 VED SVELGING: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege ved ubehag. Skyll munnen.
- P301 + P310 + P330 VED SVELGING: Skyll munnen. IKKE framkall brekning.
- P303 + P361 + P353 VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll eller dusj 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 + P310 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skylling. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P308 + P313 Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.
- P333 + P313 Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.
- P362 + P364 Tilsølte klær må fjernes og vaskes før bruk.
- P390 Absorber spill for å hindre materiell skade.
- P405 Oppbevares innelåst.
- P406 Oppbevares i korrosjonsbestandig beholder med korrosjonsbestandig indre belegg.
- P501 Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallshåndteringsanlegg.

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse under bruk av denne enheten eller som et resultat av bruken, må det rapporteres til produsenten eller produsentens autoriserte representant og til den nasjonale myndigheten.

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 den autoriserte representanten 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
- 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

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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 CH-REP-informasjon.	
Rev. 6.0	2025
Oppdaterte SDS-informasjon. La til CH-importørinformasjon	



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

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

Kullanım Talimatları

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 Kullanıma" yöneliktir. 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, günümüzde 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 enzimi 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 çözümü de dahil edilmiştir. Bu stabil çözelti, 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 GCB baz, 7,0 mg/mL, C.I. 11160, stabilizatörlü 0,4 mol/L hidroklorik asit içinde. 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

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

Hematoksilin, 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

Hematoksilin 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 kadar ısıtın. Ağzı sıkıca kapalı olarak buzdolabında saklanırsa 2 aya kadar stabildir. Buharlaşıma görürseniz Fiksatif Çözeltiyi atın ve yenisini hazırlayın.

Bozulma

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

Sitrat Çözeltisi, görünür mikrobiyal büyümenin olmadığı durumlarda kullanıma uygundur.

Çözelti kahverengiyi (havadan aşırı oksitlenme) veya mora dönerse (asidite kaybı) Hematoksilin Çözeltisi atılmalıdır.

Hazırlama

Reaktifler kullanıma hazır olarak sağlanır.

25 mL Sitrat Çözeltisi, 65 mL aseton ve 8 mL %37 formaldehid birleştirilerek 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 görecektir. Kan veya kemik iliği filmleri oda sıcaklığında (18–26°C) birkaç hafta boyunca fiks edilmiş halde ya da aktivitesinde kayda değer bir değişiklik olmadığı sürece birkaç gün boyunca fiks edilmeden saklanabilir.³ Tam kanı tahlil için başka laboratuvarlara 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 kullanıma yetecek kadar deiyonize suyu 37°C'ye kadar önceden ısıtın. Kullanmadan önce sıcaklığını kontrol edin.
- 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 durulayıp ardından Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3 içinde 2 dakika boyunca zıt boyama yapın.
- Mavi çekirdek oluşana kadar alkali musluk suyunda birkaç dakika durulayın.
- Kurumaya bırakın ve mikroskop altında değerlendirin. Boya zamanla solduğu için lamel tavsiye edilmez.

Performans Özellikleri

Sonuçlar

Boyalı kan filmleri genellikle tartarata dirençli enzimin varlığı veya yokluğu açısından özel bir şekilde değerlendirilir. Tartarik asit olmadığı durumlarda çoğu lökosit granüler aktivite alanları gösterir. Tartarat ile inkübe edilen lenfositlerde ve bazı özel makrofajlarda ara sıra granül gözlemlenebilir.⁴ Kan smear'larında pozitif reaksiyon, yaygın ve yoğun aktiviteye sahip ikiden 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	Tahliller Arası Özgüllük	Tahliller 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.

H317 Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.

H350 Kansere neden olabilir.

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

H402 Sudaki yaşam için zararlıdır.

P201 Kullanmadan önce özel kullanma talimatlarını edinin.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan dokunmayın.

P234 Yalnızca orijinal ambalajının içinde saklayın.

P260 Dumanını veya buharını solumayın.

P264 Dokunduktan sonra cildinizi iyice yıkayın.

P270 Bu ürünü kullanırken bir şey yemeyin, içmeyin veya sigara içmeyin.

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

P280 Koruyucu eldiven, koruyucu giysi, göz koruyucu ve yüz koruyucu kullanın.

P301 + P312 + P330 YUTULMASI HALİNDE: Kendinizi iyi hissetmiyorsanız bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın. Ağzınızı durulayın.

P301 + P330 + P331 YUTULMASI HALİNDE: Ağzınızı durulayın. Kusmaya ÇALIŞMAYIN.

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

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 + P310 GÖZLE TEMASI HALİNDE: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİ/doktoru arayın.

P308 + P313 Maruz kalınması veya endişe edilen bir durum olması halinde: Tıbbi yardım/müdahale alın.

P333 + P313 Ciltte tahriş veya kaşıntı söz konusu ise: Tıbbi yardım/müdahale alın.

P362 + P364 Kontamine olan kıyafetleri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın

P390 Malzeme hasarını önlemek için dökülen sıvıları temizleyin.

P405 Kilitli halde saklayın.

P406 Dayanıklı iç astarı olan aşındırıcı maddelere dirençli bir kapta saklayın.

P501 İçerikleri/kabı, onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.

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

Revizyon Geçmişi

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. 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. CH-REP bilgileri eklendi.
Rev. 6.0	2025
	SDS bilgileri güncellendi. CH İthalatçı 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



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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

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 ammatikäyttöön *in vitro* -diagnostiikassa. Tämä manuaalinen, kvalitatiivinen, histokemiallinen menetelmä osoittaa happaman fosfataasin toiminnan ihmisen verinäytteiden, luuytimen tai kudосosketusvalmistaiden leukosyyteissä. Leukosyytteihin liittyvän happaman fosfataasin histologinen visualisointi on ainutlaatuinen tekniikka, joka on nykylääketeieteessä yleisessä käytössä.

Goldberg ja Barka raportoivat ensimmäisinä substituutoidun naftoli-AS-fosfaattien käytöstä yhdessä diatsoniumsulojen 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 kytketty nopeasti happamassa pH:ssa, jolloin väriainekertymien liukenemattomuusaste on korkea.

Useimmissa menetelmissä, Sigma-Aldrichin menetelmä mukaan lukien, käytetään stabiileja diatsoniumsuloja. Niitä muodostetaan ariyliamiinin ja natriumnitriitin välisellä reaktiolla happoväliaineissa.² Muodostunut (yleensä epästabiili) diatsoniumkloridi voidaan tämän jälkeen käsitellä stabiileja suloja 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. Sivelyvalmistaiden kaksoiskappaleita voidaan käsitellä L(+)-tartraattia sisältävällä liuoksella. Entsymaattisen hydrolyysin vapauttama naftoli-AS-BI kytketty välittömästi nopeaan granaatti-GBC:hen ja muodostaa liukenemattomia violetinruskeita värikertymiä toiminta-alueille. Viinihappoherkkää hapanta fosfataasia sisältävissä soluissa ei ilmene toimintaa. Käsittele 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, 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)

Natriumnitriitti, 0,1 mol

Sitraattiliuos (luettelonro 915-50ML)

Sitruunahappo, 18 mmol/l, natriumsitraatti, 9 mmol/l, natriumkloridi, 12 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 stabilointiaine Vaara. Haitallista nieltynä. Voimakkaasti silmiä vaurioittavaa. Käytä suojakäsineitä/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

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 (ylioksidoinut ilman vaikutuksesta) tai violetiksi (happamuuden häviäminen).

Valmistelu

Reagenssit toimitetaan käyttövalmiina.

Valmista fiksatiiviliuos yhdistämällä 25 ml sitraattiliuosta, 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 laboratoriympäristössä. Nämä IVD-laitteet on tarkoitettu vain pätevän ammattihenkilöstön käyttöön. *In vitro* -diagnostisia Sigma-Aldrich-laitteita saa käyttää laboratoriohenkilöstö, joka on koulutettu käsittelemään mahdollisesti tartuntavaarallisia ihmisperäisiä näytteitä ja käyttämään mikroskooppia ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskooppilla.

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 sivelyvalmistaiden kuivua vähintään yksi tunti ennen kiinnitystä.

Huomautukset

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

Menettely

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

	Dekantteri-lasi A	Dekantteri-lasi 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

5. Merkitse Coplin-astiat A ja B ja siirrä liuokset dekantterilaseista vastaaviin Copin-astioihin. Lämmitä liuokset astioissa 37 °C:seen vesihautessa. Tarkista ennen objektilasian lisäämistä, että lämpötila on 37 °C.
6. Lisää objektilaseja Coplin-astioihin ja inkuboi yksi tunti 37 °C:n vesihautessa valolta suojattuna.
7. Kun tunti on kulunut, huuhtelee objektilasit huolellisesti deionisoidussa vedessä ja vastavärjää sitten kaksi minuuttia hematoksyliiniliuoksessa, Gillin nro 3.
8. Huuhtelee useita minuutteja emäksisessä vesijohtovedessä, jotta tumat sinertyvät.
9. Anna kuivua ja arvioi mikroskooppisesti. Petinlasien käyttämistä ei suositella, sillä väriaine haalistuu ajan kuluessa.

Suorituskykyominaisuudet

Tulokset

Tartraattiresistentin entsyymin läsnäolo värjättyissä veren sivelyvalmisteissa arvioidaan yleensä subjektiivisesti. Mikäli viinihappoa ei ole, suurimmassa osassa leukosyyttejä havaitaan granulaarisia toiminta-alueita. Tartraatin kanssa inkuboituina lymfosyyteissä 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 lymfosyyteille (T-solut) ominaisen Golgin värjäyksen arviointiin suositellaan Sigma-Aldrichin menetelmää nro 181.

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

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

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Lueto-lo-nro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määri-tyksen sisäinen spesifisyys	Määri-tyksen sisäinen herkkyys	Määritysten välinen spesifisyys	Määri-tysten välinen herkkyys
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.
- H317 Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion.
- H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.
- H373 Saattaa vahingoittaa elimiä (munuaiset) pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa nieltynä.
- H402 Haitallista vesielioille.
- P201 Lue erityisohjeet ennen käyttöä.
- P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.
- P234 Säilytä alkuperäispakkauksessa.
- P260 Älä hengitä sumua tai höyryä.
- P264 Pese iho huolellisesti käsittelyn jälkeen.
- P270 Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä.
- P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
- P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.
- P301 + P312 + P330 JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/ lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia. Huuhdo suu.
- P301 + P310 + P330 JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuhdo suu. ÄLÄ oksennuta.
- P303 + P361 + P353 JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOILLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo iho vedellä tai suihkuta.
- P304 + P340 + P310 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.
- P305 + P351 + P338 + P310 JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.
- P308 + P313 Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Hakeudu lääkäriin.
- P333 + P313 Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa: Hakeudu lääkäriin.
- P362 + P364 Riisu ja pese saastunut vaatetus ennen uudelleenkäyttöä.
- P390 Imeytä valumat vahinkojen estämiseksi.
- P405 Varastoi lukitussa tilassa.
- P406 Varastoi syöpymättömässä säiliössä, jossa on kestävä sisävuoraus.
- P501 Hävitä sisältö/pakkaus kaikkien paikallisten, alueellisten ja kansallisten määräysten mukaisesti.

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
	Osoittaa valtuutetun edustajan 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 verkkosivuillamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.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 näyteenotossa. Symboliosiota 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.	
Versio 6.0	2025
SDS-tiedot päivitetty. Lisätty CH-maahantuoja.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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.

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 leukocytegeassocieerde 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 werk-reagentia 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 wijnsteenzuurresistente 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 zoutzuur 0,4 mol/L met stabilisator. Gevaar. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. 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 lichte huidirritatie.

Natriumnitrietoplossing (cat. nr. 914-10ML)
Natriumnitriet, 0,1 mol

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/L, 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 weefsels geen infectie overdragen. Daarom moeten alle bloedderivaten of weefselmonsters als mogelijk infectieus worden beschouwd.

Bloed, beenmergfilms, 'tissue touch'-preparaten en cytocentrifugepreparaten kunnen worden gebruikt. EDTA of heparine dient als antistollingsmiddel. Bloed of beenmergfilms kunnen gefixeerd bij kamertemperatuur (18-26 °C) enkele weken of ongefixeerd enkele dagen worden bewaard zonder merkbare verandering in activiteit.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 vóór gebruik de temperatuur.
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 100 mL-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. Coverslippen worden 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 bloedsmeers 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.	Product-beschrijving	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	Natriumnitriet-oplossing	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.
- H317 Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
- H350 Kan kanker veroorzaken.
- H373 Kan bij inslikken schade aan organen (nieren) veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling.
- H402 Schadelijk voor in het water levende organismen.
- P201 Alvorens te gebruiken, de speciale aanwijzingen raadplegen.
- P202 Pas gebruiken nadat u alle veiligheidsvoorschriften gelezen en begrepen heeft.
- P234 Uitsluitend in de oorspronkelijke container bewaren.
- P260 Geen nevel of dampen inademen.
- P264 Na het werken met dit product de huid grondig wassen.
- P270 Niet eten, drinken of roken tijdens het gebruik van dit product.
- P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.
- P280 Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oogbescherming en gezichtsbescherming.
- P301 + P312 + P330 NA INSLIKKEN: Bel een ANTIGIFCENTRUM/arts als u zich onwel voelt. Spoel de mond.
- P301 + P330 + P331 NA INSLIKKEN: Spoel de mond. GEEN braken opwekken.
- P303 + P361 + P353 BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Trek onmiddellijk alle verontreinigde kleding uit. Spoel de huid af met water of onder de douche.
- 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 + P310 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en indien mogelijk. Blijven spoelen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P308 + P313 Bij blootstelling of ongerustheid: Vraag medisch advies/medische hulp.
- P333 + P313 Bij huidirritatie of huiduitslag: Vraag medisch advies/medische hulp.
- P362 +P364 Verontreinigde kleding uittrekken en wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken
- P390 Gelekte/gemorst stof opnemen om materiële schade te vermijden.
- P405 Achter slot bewaren.
- P406 In corrosiebestendige houder met corrosiebestendige binnenbekleding bewaren.
- P501 Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkende afvalverwerkingsinstallatie.

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 <i>in-vitro</i> diagnostiek
	Temperatuurlimiet		Let op
	Fabricagedatum		Importeur
	Geeft de geautoriseerde 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

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

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 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.	
Rev. 6.0	2025
SDS-informatie bijgewerkt. Informatie over CH-importeur 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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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 kisle fosfataze (TRAP)

Postopek št. 387



Predvidena uporaba

Kompleti za kisle fosfataze 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 hitro granatno sol GBC. Slednja spojina je bila izbrana, ker se pri kislem 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 hitre granatne baze GBC 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 diazotiziran hitri granat 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 hitrim granatom GBC in na lokacijah aktivnosti tvori netopna bordo barvila. Celice, ki vsebujejo na vinsko kislino občutljivo kislinsko fosfatazo, so brez aktivnosti. Na tiste mononuklearne celice, ki vsebujejo fosfatazo, odporno na vinsko kislino, takšno zdravljenje ne vpliva.

Reagenti

Raztopina fosforne kisline naftol AS-BI (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 alergijsko kožno reakcijo. Lahko povzroči nastanek raka.

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

Raztopina tartarata (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

Raztopina hematoksilina, Gill št. 3 (kat. št. GHS3-50ML)

Hematoksin, 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/zaščito za oči/zaščito 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 etiketi reagenta je naveden datum izteka roka uporabnosti.

Raztopino naftol AS-BI fosforne kisline, osnovno raztopino Fast Garnet GBC, raztopino acetata, raztopino tartarata, 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 tesno zaprto v hladilniku. Če opazite izhlapevanje, zavržite raztopino za fiksiranje in pripravite novo.

Poslabšanje kakovosti

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

Raztopina citrata je primerna za uporabo v odsotnosti mikrobnе 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.

Previdnostni ukrepi

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

Upoštevatı 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 tkivna in preparati iz citocentrifuge. EDTA ali heparin sta antikoagulantı. Filmı 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 na testiranje v druge laboratorije. Pošijite fiksirana ali nefiksirana stekelca. Stekelca je treba med prevozom hraniti na hladnem. Pred fiksacijo pustite filme, da se sušijo vsaj 1 uro.

Opombe

Delovanje testa je treba spremljati z vključitvijo krvnega filma, pripravljenega pri zdravem posamezniku.

Postopek

- Predhodno segrejte zadostno količino deionizirane vode za enodnevno uporabo na 37 °C. Pred uporabo preverite temperaturo.
- Raztopino za fiksiranje segrejte na sobno temperaturo (18–26 °C). Stekelca fiksirajte tako, da jih za 30 sekund potopite v raztopino za fiksiranje. Temeljito sperite z deionizirano vodo: Ne dovolite, da se stekelca posušijo.
- 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.
- 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
Acetate Solution	2,0 ml	2,0 ml
Raztopina tartarata	—	1,0 ml

- 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.
- Stekelca dodajte v kozarce Coplin in jih 1 uro inkubirajte v vodni kopeli pri 37 °C, zaščiteni pred svetlobo.
- Po 1 uri stekelca temeljito sperite v deionizirani vodi, nato jih 2 minuti kontrastno barvajte z raztopino hematoksilina, Gill št. 3.
- Nekaj minut spirajte v alkalni vodi iz pipe, da jedra pomodrijo.
- Osušite na zraku in mikroskopsko ocenite. Prekrivanje ni priporočljivo, saj barvilo sčasoma zbledi.

Lastnosti 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 se lahko v limfocitih in nekaterih specializiranih makrofagih opazi 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 zmc.

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 tartarata	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3863	Acetate Solution	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 korozivno za kovine.
- H302 Škodljivo pri zaužitju.
- H314 Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.
- H317 Lahko povzroči alergijsko kožno reakcijo.
- H350 Lahko povzroči raka.
- H373 Pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti lahko ob zaužitju povzroči poškodbe organov (ledvice).
- H402 Škodljivo za vodne organizme.
- P201 Pred uporabo pridobiti posebna navodila.
- P202 Ne uporabljajte, dokler ne preberete in razumete vseh varnostnih ukrepov.
- P234 Hraniti samo v originalni posodi.
- P260 Ne vdihavati meglice ali hlapov.
- P264 Po uporabi temeljito umiti kožo.
- P270 Ne jesti, piti ali kaditi med uporabo tega izdelka.
- P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za oči/zaščito za obraz.
- P280 Nositi zaščitne rokavice, zaščitno obleko, zaščito za oči in zaščito za obraz.
- P301 + P 312 + P330 PRI ZAUŽITJU: Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/ zdravnika. Izperite usta.
- P301 + P330 + P331 PRI ZAUŽITJU: Izperite usta. NE izzvati bruhanja.
- P303 + P361 + P353 PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi): Takoj sleči vsa kontaminirana oblačila. Kožo izprati z vodo/prho.
- 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 + P310 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. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P308 + P313 Pri izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
- P333 + P313 Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: Poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.
- P362 +P364 Sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo.
- P390 Absorbirajte razlitje, da preprečite poškodbe materiala.
- P405 Hraniti zaklenjeno.
- P406 Hraniti v posodi, odporni proti koroziji, z odporno notranjo oblogo.
- P501 Odstraniti vsebino/posodo na odobreno odlagališče odpadkov.

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 <i>in vitro</i>
	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://www.sigmaaldrich.com). Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Zgodovina revizij

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. 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 referenca 5. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodani podatki o CH-REP.
Rev. 6.0	2025
	Posodobljene so informacije v varnostnem listu. Dodani so podatki o uvozniku za Švico.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

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

Instrucțiuni de utilizare

Kit pentru determinarea fosfatazei acide leucocitare (TRAP)

Procedura nr. 387



Domeniu de utilizare

Kiturile Sigma-Aldrich pentru determinarea fosfatazei acide sunt destinate utilizării generale în laborator, cu rol de coloranți histologici. Reactivii pentru fosfataza acidă sunt destinați utilizării exclusiv pentru diagnosticare *in vitro*. Această procedură histochimică manuală calitativă demonstrează activitatea fosfatazei acide în leucocitele din sângele uman sau în frotiuri de măduvă osoasă și preparate cu prin amprentă tisulară. Vizualizarea histologică a fosfatazei acide asociate leucocitelor este o tehnică unică utilizată în prezent în mod frecvent în medicină.

Utilizarea fosfaților de naftol AS substituiți în combinație cu săruri de diazoniu pentru detectarea fosfatazei acide în leucocitele umane a fost raportată pentru prima dată de Goldberg și Barka.¹ Procedura Sigma-Aldrich pentru demonstrarea acestei enzime utilizează fosfat de naftol AS-BI și sare Fast Garnet GBC proaspăt diazotată. Acest al doilea compus a fost ales deoarece se leagă rapid la un pH acid, formând depozite de colorant foarte insolubile.

Majoritatea procedurilor, inclusiv cea furnizată de Sigma-Aldrich, utilizează săruri de diazoniu stabile. Acestea se formează prin reacția unei arilamine cu nitrit de sodiu într-un mediu acid.² Clorura de diazoniu rezultată (de obicei instabilă) poate fi apoi tratată cu compuși precum clorură de zinc, sulfat de zinc sau naftalen-1,6-disulfonat, formând săruri stabile. Acești stabilizatori pot exercita o inhibare accentuată asupra unor sisteme enzimatic, în timp ce clorurile de diazoniu sunt mai puțin inhibitorii.² Din acest motiv, Sigma-Aldrich oferă acum o soluție stabilă compusă din Fast Garnet GBC ca bază și nitrit de sodiu pentru citochimie fosfatazei acide. Pentru a simplifica și mai mult această metodă, este inclusă și o soluție apoasă stabilă de fosfat de naftol AS-BI. Disponibilitatea acestor soluții stabile le permite utilizatorilor să ajusteze volumele de reactivi de lucru în funcție de necesități, eliminând risipa.

Conform procedurii Sigma-Aldrich, frotiurile de sânge sunt incubate într-o soluție care conține acid fosforic de naftol AS-BI și Fast Garnet GBC proaspăt diazotată. Frotiurile duplicate pot fi tratate cu o soluție care conține L(+)-tartrat. Naftolul AS-BI, eliberat prin hidroliză enzimatică, se leagă imediat de Fast Garnet GBC, formând depozite de colorant maro insolubile în situsurile de activitate. Celulele care conțin fosfatază acidă sensibilă la acidul tartric sunt lipsite de activitate. Celulele mononucleate care conțin fosfatază rezistentă la acidul tartric nu sunt afectate de un astfel de tratament.

Reactivi

Soluție de acid fosforic de naftol AS-BI (nr. cat. 3871-10ML)
Acid fosforic de naftol AS-BI, 12,5 mg/ml

Soluție bazică Fast Garnet GBC (nr. cat. 3872-10ML)

Bază Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, în acid clorhidric 0,4 mol/l cu stabilizator. Pericol. Novic în caz de înghițire. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Poate provoca cancer.

Soluție acetat (nr. cat. 3863-50ML)
Soluție tampon acetat, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Soluție de tartrat (nr. cat. 3873-10ML)
Soluție tampon L(+)-tartrat, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Avertizare: Provoacă iritarea ușoară a pielii.

Soluție de nitrit de sodiu (nr. cat. 914-10ML)
Nitrit de sodiu, 0,1 mol/l

Soluție de citrat (nr. cat. 915-50ML)
Acid citric, 18 mmol/l, citrat de sodiu, 9 mmol/l, clorură de sodiu, 12 mmol/l, și surfactant; pH 3,6 ± 0,1

Soluție de hematoxilină Gill nr. 3 (nr. cat. GHS3-50ML)
Hematoxilină, certificată, 6,0 g/l, C.I. 75290, iodat de sodiu, 0,6 g/l, sulfat de aluminiu, 52,8 g/l, și stabilizatori. Pericol. Novic în caz de înghițire. Provoacă leziuni oculare grave. Purtați mănuși de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

Sunt necesare materiale speciale, dar acestea nu sunt furnizate

- Acetonă, reactiv ACS
- Formaldehidă, 37%

Depozitare și stabilitate

Păstrați soluția de hematoxilină la temperatura camerei (18-26 °C). A se proteja de lumină. Pe eticheta reactivului este menționată data de expirare.

Păstrați soluția de acid fosforic de naftol AS-BI, soluția bazică Fast Garnet GBC, soluția de acetat, soluția de tartrat, soluția de nitrit de sodiu și soluția de citrat la 2-8 °C.

Păstrați soluția de fixare la frigider (2-8 °C). Încălziți la 18-26 °C înainte de utilizare. Stabiliți timp de până la 2 luni, dacă este păstrată bine închisă în frigider. Aruncați soluția de fixare dacă se observă evaporare și preparați o soluție proaspătă.

Deteriorare

Soluția de acid fosforic de naftol AS-BI, soluția de tartrat trebuie aruncate dacă apare turbiditatea.

Soluția de citrat este adecvată pentru utilizare în absența creșterii microbiene.

Soluția de hematoxilină trebuie aruncată dacă devine maronie (supraoxidare la aer) sau violetă (pierderea acidității).

Preparare

Reactivii sunt furnizați gata de utilizare.

Preparați soluția de fixare combinând 25 ml de soluție de citrat, 65 ml de acetonă și 8 ml de formaldehidă 37%. Puneți într-un recipient din sticlă și închideți etanș.

Precauții

Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate utilizării pentru diagnosticare *in vitro* într-un mediu de laborator clinic. Aceste dispozitive pentru DIV sunt destinate exclusiv utilizării profesionale de către personalul calificat. Dispozitivele pentru DIV Sigma-Aldrich pot fi folosite de personalul de laborator instruit cu privire la manipularea de probe provenite de la oameni care pot fi infecțioase, folosirea microscopelor și a altor echipamente de laborator și care percepe culorile și are acuitate vizuală pentru a distinge culorile și alte obiecte la microscop.

Trebuie luate măsurile de precauție normale pentru manipularea reactivilor de laborator. Eliminați deeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Procedură

Recoltarea probelor

Nicio metodă de testare cunoscută nu garantează că probele de sânge sau țesutul nu va transmite infecții. Prin urmare, toate probele de derivate din sânge sau de țesut trebuie considerate potențial infecțioase.

Pot fi utilizate frotiuri de sânge, frotiuri de măduvă osoasă, preparate prin amprentă tisulară și preparate pentru citocentrifuge. Anticoagulantul va fi EDTA sau heparină. Frotiurile de sânge sau de măduvă osoasă pot fi păstrate fixate la temperatura camerei (18-26 °C), timp de câteva săptămâni, sau nefixate timp de câteva zile, fără modificări apreciabile ale activității.³ Nu expediți sânge integral pentru analiză la alte laboratoare. Trimiteți lame fixate sau nefixate. Lamele trebuie păstrate la rece în timpul transportului. Lăsați frotiurile să se usuce cel puțin 1 oră înainte de fixare.

Note

Performanța testului trebuie monitorizată prin includerea unui frotiu de sânge preparat de la o persoană sănătoasă.

Procedură

1. Preîncălziți suficientă apă deionizată pentru o zi de utilizare, la 37 °C. Verificați temperatura înainte de utilizare.
2. Aduceți soluția de fixare la temperatura camerei (18-26 °C). Fixați lamele imersându-le în soluția de fixare timp de 30 de secunde. Clătiți bine în apă deionizată: Nu lăsați lamele să se usuce.
3. În fiecare dintre cele 2 eprubete pentru testare, adăugați câte 0,5 ml de soluție bazică Fast Garnet GBC și 0,5 ml de soluție de nitrit de sodiu. Omogenizați prin răsturnare ușoară timp de 30 de secunde. Lăsați soluția în repaus timp de 2 minute.
4. Etichetați două pahare de 100 ml drept A și B și adăugați următoarele în timp ce amestecați:

	Paharul A	Paharul B
Apă deionizată preîncălzită la 37 °C	45 ml	45 ml
Soluție Fast Garnet GBC diazotată (pasul 3)	1,0 ml	1,0 ml
Soluție de fosfat de naftol AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Soluție de acetat	2,0 ml	2,0 ml
Soluție de tartrat	—	1,0 ml

5. Etichetați recipientele Coplin A și B și transferați soluțiile din pahare în recipientele Coplin corespunzătoare. Încălziți soluțiile din recipiente la 37 °C, în baie de apă. Verificați ca temperatura să fie 37 °C înainte de a introduce lamele.
6. Introduceți lamele în recipientele Coplin și incubați 1 oră în baie de apă la 37 °C, protejate de lumină.
7. După 1 oră, clătiți bine lamele în apă deionizată, apoi contracolorați timp de 2 minute în soluție de hematoxilină Gill nr. 3.
8. Clătiți câteva minute în apă alcalină de la robinet, până când nucleii devin albaștri.
9. Uscați la aer și evaluați microscopic. Nu se recomandă acoperirea lamelor, deoarece colorantul se estompează în timp.

Caracteristici de performanță

Rezultate

Frotiurile de sânge colorate sunt de obicei evaluate subiectiv în privința prezenței sau absenței enzimei rezistente la tartrat. În absența acidului tartric, majoritatea leucocitelor prezintă situsuri de activitate granulare. Când sunt incubate cu tartrat, în limfocite și în unele macrofage specializate se poate observa ocazional o granulă.⁴ În frotiurile de sânge, o reacție pozitivă este indicată prin prezența a mai mult de două celule cu activitate difuză și intensă, adică a mai mult de 40 de granule.⁴ Pentru a evalua colorația aparatului Golgi caracteristică limfocitelor derivate din timus (celulelor T) se recomandă procedura Sigma-Aldrich nr. 181.

Activitatea fosfatazei acide apare sub formă de granule de culoare violet până la roșu-închis în citoplasma majorității leucocitelor.

Dacă rezultatele observate diferă de rezultatele preconizate, contactați serviciul tehnic Sigma-Aldrich pentru asistență.

Caracteristici de performanță analitică

Rezultatele performanței analitice pentru testele efectuate pentru toate structurile vizate confirmă 100 % sensibilitate, specificitate și repetabilitate.

Nr. cat.	Descrierea produsului	Țintă	Specifi- citatea intra-test	Sensibi- litatea intra-test	Specifi- citatea inter-test	Sensibi- litatea inter-test
3871	Soluție de acid fosforic de naftol AS-BI	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
3872	Soluție bazică Fast Garnet GBC	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
3873	Soluție de tartrat	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
3863	Soluție de acetat	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
914	Soluție de nitrit de sodiu	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
915	Soluție de citrat	Situsuri de activitate	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
GHS3	Soluție de hematoxilină Gill nr. 3	Nuclee	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3

Avertizări și pericole

Consultați fișa cu date de securitate și eticheta produsului pentru informații actualizate despre riscuri, pericole sau siguranță.

387A:



- H290 Poate fi coroziv pentru metale.
- H302 Nociv în caz de înghițire.
- H314 Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.
- H317 Poate provoca o reacție alergică a pielii.
- H350 Poate provoca cancer.
- H373 Poate provoca leziuni ale organelor (rinichilor) în caz de expunere prelungită sau repetată, dacă este înghițit.
- H402 Nociv pentru mediul acvatic.
- P201 Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare.
- P202 A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.
- P234 Păstrați numai în recipientul original.
- P260 Nu inspirați ceața sau vaporii.
- P264 Spălați-vă bine pielea după utilizare.
- P270 A nu mânca, bea sau fuma în timpul utilizării produsului.
- P280 Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.
- P280 Purtați mănuși de protecție, îmbrăcăminte de protecție, echipament de protecție a ochilor și echipament de protecție a feței.
- P301 + P 312 + P330 ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic dacă nu vă simțiți bine. Clătiți gura.
- P301 + P330 + P331 ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: Clătiți gura. NU induceți voma.
- P303 + P361 + P353 ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau cu părul): scoateți imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceți duș.
- P304 + P340 + P310 ÎN CAZ DE INHALARE: transportați victima la aer liber și mențineți-o în stare de repaus, într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.
- P305 + P351 + P338 + P310 ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul sau dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic.
- P308 + P313 În caz de expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.
- P333 + P313 În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul.
- P362 +P364 Scoateți îmbrăcămintea contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
- P390 Absorbiți scurgerile de produs, pentru a nu afecta materialele din apropiere.
- P405 A se depozita sub cheie.
- P406 Depozitați într-un recipient rezistent la coroziune, cu dublură interioară rezistentă la coroziune.
- P501 Aruncați conținutul/recipientul într-o instalație aprobată de eliminare a deșeurilor.

Dacă în timpul utilizării acestui dispozitiv sau ca urmare a folosirii acestuia are loc un incident grav, vă rugăm să îl raportați producătorului și/sau reprezentantului său autorizat și autorității naționale.

Definițiile simbolurilor

Simboluri conform definiției din EN ISO 15223-1:2021

	Producător		Număr de catalog
	Consultați instrucțiunile de utilizare		Codul lotului
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană		Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare		Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
	Indică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

- 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

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Istoricul versiunilor

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
	S-a trecut la un șablon nou cu elemente de marcă actuale. S-a precizat că dispozitivul este pentru uz profesional în secțiunile Domeniu de utilizare și Precauții. S-a modificat secțiunea Domeniu de utilizare pentru a respecta îndrumările IVDR. S-a schimbat Fișa tehnică de siguranță în Fișă cu date de securitate. S-au actualizat informațiile de contact. S-au eliminat instrucțiunile privind respectarea CLSI pentru recoltarea probelor. S-a eliminat standardul EN 980 și s-a adăugat EN ISO 15223-1:2021 pentru simboluri. S-au adăugat informații de contact în caz de evenimente adverse. S-a eliminat referința nr. 5. S-a adăugat secțiunea Avertizări și pericole. S-au adăugat informații despre reprezentantul în Elveția.
Rev. 6.0	2025
	S-au actualizat informațiile din fișa cu date de securitate (FDS). S-au adăugat informații despre importatorul din Elveția.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Inițiala M și Sigma-Aldrich sunt mărci comerciale ale Merck KGaA, Darmstadt, Germania sau ale afiliaților săi. Toate celelalte mărci comerciale sunt proprietatea deținătorilor respectivi. Informații detaliate despre mărcile comerciale sunt disponibile în resurse accesibile publicului.

Upute za upotrebu

Komplet Leukocyte Acid Phosphatase (TRAP)

Postupak br. 387



Predviđena namjena

Kompleti Acid Phosphatase tvrtke Sigma-Aldrich namijenjeni su za opću laboratorijsku upotrebu u histološkom bojenju. Reagensi Acid Phosphatase namijenjeni su isključivo za profesionalnu „in vitro” dijagnostičku upotrebu”. Ovaj ručni, kvalitativni, histokemijski postupak pokazuje aktivnost kiselinske fosfataze u leukocitima ljudske krvi, koštanoj srži i preparatima tkiva dobivenih otiskom. Histološka vizualizacija kiselinske fosfataze povezane s leukocitima jedinstvena je tehnika koja se trenutno uobičajeno koristi u medicini.

Uporabu supstituiranih naftal AS fosfata u kombinaciji s diazonijevim solima za otkrivanje kiselinske fosfataze u ljudskim leukocitima prvi su zabilježili Goldberg i Barka.¹ Postupak tvrtke Sigma-Aldrich za dokazivanje ovog enzima temelji se na upotrebi naftal AS-BI fosfata i svježe diazotirane Fast Garnet GBC soli. Potonji spoj odabran je jer se brzo spaja pri kiselim pH vrijednostima, stvarajući vrlo netopljive naslage bojila.

Većina postupaka, uključujući onaj koji pruža tvrtka Sigma-Aldrich, upotrebljava stabilne fosfataze u ljudskim leukocitima prvi su zabilježili Goldberg i Barka.¹ Postupak tvrtke Sigma-Aldrich za dokazivanje ovog enzima temelji se na upotrebi naftal AS-BI fosfata i svježe diazotirane Fast Garnet GBC soli. Potonji spoj odabran je jer se brzo spaja pri kiselim pH vrijednostima, stvarajući vrlo netopljive naslage bojila.

Prema postupku tvrtke Sigma-Aldrich razmazi krvi inkubiraju se u otopini koja sadrži naftal AS-BI fosfornu kiselinu i svježe diazotiran Fast Garnet GBC. Duplicirani razmazi mogu se obraditi otopinom koja sadrži L(+)-tartarat. Naftal AS-BI, oslobođen enzimskom hidrolizom, odmah se spaja s Fast Garnet GBC-om, koji formira netopljive naslage kestenjaste boje na mjestima aktivnosti. Kod stanica koje sadrže kiselinsku fosfatazu osjetljivu na vinsku kiselinu nema aktivnosti. Takva obrada ne utječe na mononuklearne stanice koje sadrže fosfatazu otpornu na vinsku kiselinu.

Reagensi

Otopina naftal AS-BI fosforne kiseline (kat. br. 3871-10ML)
Naftal AS-BI fosforna kiselina, 12,5 mg/ml

Otopina Fast Garnet GBC baze (kat. br. 3872-10ML)
Fast Garnet GBC baza, 7,0 mg, C.I. 11160, u 0,4 mol/l klorovodične kiseline sa stabilizatorom. Opasnost. Štetno ako se proguta. uzrokuje teške opekline kože i oštećenje očiju. Može uzrokovati alergijsku reakciju na koži. može uzrokovati rak.

Otopina acetata (kat. br. 3863-50ML)
Pufer acetata, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Otopina tartarata (kat. br. 3873-10ML)
Pufer tartarata L(+), 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Upozorenje. Uzrokuje blago nadražujuće djelovanje na kožu.

Otopina natrijevog nitrita (kat. br. 914-10ML)
Natrijev nitrit, 0,1 mol/l

Otopina citrata (kat. br. 915-50ML)
Limunska kiselina, 18 mmol/l, natrijev citrat, 9 mmol/l, natrijev klorid, 12 mmol/l i surfaktant, pH 3,6 ± 0,1

Gillova otopina hematoksilina br. 3 (kat. br. GHS3 – 50 ML)
Hematoksin, certificiran, 6,0 g/l, C.I. 75290 natrijev jodat, 0,6 g/l, aluminijev sulfat, 52,8 g/l i stabilizatori. Opasnost. štetno ako se proguta. Uzrokuje teško oštećenje očiju. Nositi zaštitne rukavice / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Aceton, ACS reagens
- Formaldehid, 37 %

Pohrana i stabilnost

Otopinu hematoksilina čuvajte na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C). Zaštititi od svjetlosti. Naljepnica na reagensu ima navedene datume isteka roka trajanja.

Otopinu naftal AS-BI fosfatne kiseline, otopinu Fast Garnet GBC baze, otopinu acetata, otopinu tartarata, otopinu natrijevog nitrita i otopinu citrata čuvajte na 2 – 8 °C.

Otopinu za fiksiranje čuvajte u hladnjaku (2 – 8 °C). Prije upotrebe zagrijte na 18 – 26 °C. Stabilno do dva mjeseca ako se čuva čvrsto zatvoreno u hladnjaku. Odbacite otopinu za fiksiranje ako primijetite isparavanje i pripremite svježu.

Kvarenje

Otopinu naftal AS-BI fosforne kiseline, otopinu tartarata treba odložiti u otpad ako se razvije zamućenost.

Otopina citrata prikladna je za upotrebu u odsutnosti vidljivog razvoja mikroba.

Odložite otopinu hematoksilina u otpad ako otopina postane smeđa (pretjerana oksidiranost od zraka) ili ljubičasta (gubitak kiselosti).

Priprema

Reagensi se isporučuju spremni za uporabu.

Pripremite otopinu za fiksiranje kombiniranjem 25 ml otopine citrata, 65 ml acetona i 8 ml 37 %-tnog formaldehida. Stavite u staklenu bočicu i čvrsto zatvorite.

Mjere opreza

In vitro dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su in vitro dijagnostičkoj uporabi u kliničkom laboratorijskom okruženju. Ti su in vitro dijagnostički medicinski proizvodi namijenjeni su samo za profesionalnu uporabu od strane kvalificiranog osoblja. In vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima tvrtke Sigma-Aldrich može upravljati laboratorijsko osoblje koje je obučeno za rukovanje ljudskim uzorcima koji mogu biti zarazni, upotrebu mikroskopa i druge laboratorijske opreme te koje ima percepciju boja i oštrinu vida za razlikovanje boja i drugih predmeta pod mikroskopom.

Treba se pridržavati uobičajenih mjera opreza koje se primjenjuju pri rukovanju laboratorijskim reagensima. Odložite otpad poštujući sve lokalne, državne, pokrajinske ili nacionalne propise.

Postupak

Prikupljanje uzorka

Nijedna poznata metoda ispitivanja ne može pružiti potpunu sigurnost da uzorci krvi ili tkiva neće preneti infekciju. Stoga se svi krvni derivati ili uzorci tkiva trebaju smatrati potencijalno zaraznima.

Mogu se upotrebljavati razmazi krvi, koštane srži, preparati tkiva dobiveni otiskom i preparati za citocentrifugiranje. EDTA ili heparin poslužiti će kao antikoagulansi. Razmazi krvi ili koštane srži mogu se čuvati fiksirani na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C) nekoliko tjedana ili nefiksirani nekoliko dana bez značajnih promjena u aktivnosti.³ Nemojte slati punu krv na testiranje u druge laboratorije. Pošaljite fiksirana ili nefiksirana stakalca. Stakalca se trebaju čuvati na hladnom tijekom prijevoza. Neka se razmazi suše barem sat vremena prije fiksacije.

Napomene

Učinak testa treba se pratiti uključivanjem pripremljenog krvnog razmaza zdrave osobe.

Postupak

1. Prethodno zagrijte dovoljno deionizirane vode za jednostevnu upotrebu na 37 °C. Prije upotrebe provjerite temperaturu.
2. Dovedite otopinu za fiksiranje do sobne temperature (18 – 26 °C). Fiksirajte stakalca tako da ih uronite u otopinu za fiksiranje na 30 sekundi. Temeljito isperite u deioniziranoj vodi: Ne dopustite da se stakalca osuše.
3. U svaku od 2 epruvete dodajte 0,5 ml otopine Fast Garnet GBC baze i 0,5 ml otopine natrijevog nitrita. Promiješajte nježno okrećući 30 sekundi. Neka stoji dvije minute.
4. Označite dvije epruvete od 100 ml kao A i B i dodajte sljedeće miješajući:

	Epruveta A	Epruveta B
Deionizirana voda unaprijed zagrijana na 37 °C	45 ml	45 ml
Otopina Fast Garnet GBC baze (korak 3)	1,0 ml	1,0 ml
Otopina naftal AS-BI fosfata	0,5 ml	0,5 ml
Otopina acetata	2,0 ml	2,0 ml
Otopina tartarata	—	1,0 ml

5. Označite posude za bojenje histoloških preparata kao A i B i prenesite otopine iz epruveta u odgovarajuću posudu za bojenje histoloških preparata. Zagrijte otopine u posudama na 37 °C u vodenoj kupelji. Prije dodavanja stakalaca provjerite je li temperatura 37 °C.
6. Dodajte stakalca u posude za bojenje histoloških preparata i inkubirajte sat vremena u vodenoj kupelji pri 37 °C uz zaštitu od svjetlosti.
7. Nakon sat vremena temeljito isperite stakalca u deioniziranoj vodi, a zatim kontrastirajte 2 minute u Gillovoj otopini hematoksilina br. 3.
8. Isperite nekoliko minuta u alkalnoj vodovodnoj vodi dok jezgre ne poprime plavu boju.
9. Sušite na zraku i pogledajte pod mikroskopom. Pokrivanje stakalaca ne preporučuje se jer boja s vremenom izbljedi.

Značajke performansi

Rezultati

Obojeni razmazi krvi obično se subjektivno procjenjuju za prisutnost ili odsutnost enzima otpornog na tartarat. U nedostatku vinske kiseline većina leukocita pokazuje granularna mjesta aktivnosti. Pri inkubiranju s tartaratom može se primijetiti pokoja granula u limfocitima i nekim specijaliziranim makrofagima.⁴ U razmazima krvi pozitivna reakcija označava se prisutnošću više od dvije stanice s difuznom i intenzivnom aktivnošću, tj. više od 40 granula.⁴ Za procjenu Golgijevog bojenja, karakteristično za limfocite dobivene iz timusa (T-stanice), preporučuje se postupak tvrtke Sigma-Aldrich br. 181.

Aktivnost kiselinske fosfataze pojavljuje se u obliku ljubičastih do tamnocrvenih granula u citoplazmi većine leukocita.

Ako se uočeni rezultati razlikuju od očekivanih, obratite se tehničkoj službi tvrtke Sigma-Aldrich za pomoć.

Značajke analitičkih performansi

Rezultati analitičkih performansi za navedena ispitivanja provedena na svim ciljnim strukturama potvrđuju 100 % osjetljivost, specifičnost i ponovljivost.

Kat. br.	Opis proizvoda	Cilj	Specifičnost unutar testa	Osjetljivost unutar testa	Specifičnost između testova	Osjetljivost između testova
3871	Otopina naftal AS-BI fosforne kiseline	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3872	Otopina Fast Garnet GBC baze	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3873	Otopina tartarata	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3863	Otopina acetata	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
914	Otopina natrijevog nitrita	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
915	Otopina citrata	Mjesta aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
GHS3	Gillova otopina hematoksilina br. 3	Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3

Upozorenja i opasnosti

Pogledajte Sigurnosno-tehnički list i oznake na proizvodu za sve ažurirane informacije o riziku, opasnosti ili sigurnosti.

387A:



H290 Može nagrizati metale.

H302 Štetno ako se proguta.

H314 Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka.

H317 Može izazvati alergijsku reakciju na koži.

H350 Može uzrokovati rak.

H373 Može uzrokovati oštećenje organa (bubrezi) kroz produženo ili ponavljano izlaganje ako se proguta.

H402 Štetno za vodeni okoliš.

P201 Prije uporabe pribaviti posebne upute.

P202 Ne rukovati prije upoznavanja i razumijevanja sigurnosnih mjera predostrožnosti.

P234 Čuvati isključivo u izvornom spremniku.

P260 Ne udisati maglu ili pare.

P264 Nakon uporabe temeljito oprati kožu.

P270 Pri rukovanju proizvodom ne jesti, piti niti pušiti.

P280 Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

P280 Nositi zaštitne rukavice, zaštitno odijelo, zaštitu za oči ili zaštitu za lice.

P301 + P 312 + P330 AKO SE PROGUTA: nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika u slučaju zdravstvenih tegoba. Isprati usta.

P301 + P330 + P331 AKO SE PROGUTA: Isprati usta. NE izazivati povraćanje.

P303 + P361 + P353 U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah skinuti svu zagađenu odjeću. Isprati kožu u vodi / pod tušem.

P304 + P340 + P310 AKO SE UDIŠE: premjestiti nesrećenog na svjež zrak, umiriti ga i postaviti u položaj koji olakšava disanje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.

P305 + P351 + P338 + P310 U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: Oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. odmah nazvati CENTAR ZA KONTROLU OTROVANJA / liječnika.

P308 + P313 u slučaju izlaganja ili zabrinutosti: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P333 + P313 Ako dođe do iritacije kože ili osipa: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P362 +P364 Skinuti zagađenu odjeću i oprati prije ponovne uporabe

P390 Apsorbirati proliveno kako bi se spriječila materijalna šteta.

P405 Skladištiti pod ključem.

P406 Skladištiti u spremniku otpornom na nagrizanje s otpornom unutarnjom oblogom.

P501 odložiti sadržaj/spremnik u odobreno postrojenje za zbrinjavanje otpada.

Ako se tijekom uporabe ovog proizvoda ili kao rezultat njegove uporabe dogodila ozbiljna nezgoda, prijavite ju proizvođaču i/ili njegovom ovlaštenom predstavniku i svom nacionalnom tijelu.

Definicije simbola

Simboli u skladu s definicijom u standardu EN ISO 15223-1:2021.

	Proizvođač		Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu		Broj serije
	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji		Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe		In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

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
- Jancikla 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

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Povijest izmjena

Rev. 3.0.	2014.
Rev. 4.0.	2016.
Rev. 5.0.	2023.
Preneseno na novi obrazac s trenutnom oznakom brenda. Specificirano za profesionalnu upotrebu u dijelu o predviđenoj namjeni i mjerama opreza. Revidirana predviđena namjena radi usklađivanja sa smjernicama IVDR-a. List o sigurnosti materijala ažuriran u Sigurnosno-tehnički list. Ažurirani podaci za kontakt. Uklonjena uputa o praćenju CLSI-a pri uzorkovanju. Uklonjen EN 980 i promijenjen u EN ISO 15223-1:2021 za simbole. Dodane nove informacije za kontakt za štetne događaje. Uklonjen referentni broj 5. Dodana upozorenja i opasnosti Dodane informacije o CH-REP.	
Rev. 6.0.	2025.
Ažurirane informacije sigurnosno-tehničkog lista. Dodane informacije o CH uvozniku.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Inicijal M i Sigma-Aldrich su zaštićeni znakovi društva Merck KGaA, Darmstadt, Njemačka ili njegovih povezanih društava. Svi su drugi zaštićeni znakovi vlasništvo njihovih vlasnika. Detaljne informacije o zaštićenim znakovima dostupne su putem javno dostupnih izvora.

Instrukcja używania

Zestaw do oznaczania fosfatazy kwaśnej w leukocytach (TRAP)

Procedura nr 387



Przeznaczenie

Zestawy firmy Sigma-Aldrich do oznaczania fosfatazy kwaśnej są przeznaczone do stosowania jako ogólna laboratoryjna metoda barwienia histochemicznego. Odczynniki do oznaczania fosfatazy kwaśnej są przeznaczone wyłącznie do profesjonalnego użytku w diagnostyce *in vitro*. Niniejsza manualna, jakościowa procedura histochemiczna przedstawia aktywność fosfatazy kwaśnej w leukocytach krwi ludzkiej, szpiku kostnym i preparatach odciskowych tkanki. Wizualizacja histologiczna fosfatazy kwaśnej związanej z leukocytami to unikatowa technika powszechnie stosowana we współczesnej medycynie.

Zastosowanie podstawionych fosforanów naftolu AS w połączeniu z solami diazoniowymi do wykrywania fosfatazy kwaśnej w leukocytach ludzkich zostało po raz pierwszy opisane przez Goldberga i Barke¹. Procedura firmy Sigma-Aldrich służąca do wykazania tego enzymu opiera się na zastosowaniu fosforanu naftolu AS-BI oraz świeżo diazotyzowanej soli Fast Garnet GBC. Wybrano ten ostatni związek, ponieważ ulega on szybkiemu sprzęganiu w kwaśnym pH, tworząc wysoce nierozpuszczalne osady barwnika.

Większość procedur, łącznie z procedurą oferowaną przez firmę Sigma-Aldrich, wykorzystuje stabilne sole diazoniowe. Powstają one w wyniku reakcji aryloaminy z azotowym sodu w środowisku kwaśnym². Powstały chlorek diazoniowy (zwykle niestabilny) można następnie poddać działaniu takich związków jak chlorek cynku, siarczan cynku lub naftaleno-1,6-disulfonian, z utworzeniem stabilnych soli. Stabilizatory te mogą wywierać wyraźne działanie hamujące na niektóre układy enzymatyczne, natomiast chlorki diazoniowe mają słabsze działanie hamujące². Z tego powodu firma Sigma-Aldrich oferuje obecnie stabilny zasadowy roztwór Fast Garnet GBC oraz azotynu sodu do zastosowań w cytochemicznych oznaczeniach fosfatazy kwaśnej. Aby jeszcze bardziej uproszczyć tę metodę, uwzględniono również stabilny wodny roztwór fosforanu naftolu AS-BI. Dostępność tych stabilnych roztworów pozwala użytkownikom na dostosowywanie objętości odczynników roboczych do potrzeb, eliminując straty.

Zgodnie z procedurą firmy Sigma-Aldrich rozmazy krwi inkubuje się w roztworze zawierającym naftol AS-BI, kwas fosforowy i sól diazoniową Fast Garnet GBC. Rozmazy zduplikowane można poddać działaniu roztworu zawierającego L(+)-winian. Naftol AS-BI, uwalniany w procesie hydrolizy enzymatycznej, natychmiast łączy się z szybko utleniającą się solą diazoniową Fast Garnet GBC, tworząc nierozpuszczalne, kasztanowe osady barwnika w miejscach aktywności. Komórki zawierające fosfatazę kwaśną wrażliwą na kwas winowy są pozbawione aktywności. Dodatek tej substancji nie wpływa na komórki jednojądrzaste zawierające fosfatazę odporną na kwas winowy.

Odczynniki

Roztwór fosforanu naftolu AS-BI (nr kat. 3871-10ML)
Roztwór fosforanu naftolu AS-BI, 12,5 mg/ml

Zasadowy roztwór soli diazoniowej Fast Garnet GBC (nr kat. 3872-10ML)
Granat szybki, zasada GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, w kwasie solnym o stężeniu 0,4 mol/l ze stabilizatorem. Niebezpieczeństwo. Działa szkodliwie po połknięciu. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Może powodować alergiczną reakcję skórą. Może powodować raka.

Roztwór octanu (nr kat. 3863-50ML)
Bufor octanowy, 2,5 mol/l, pH 5,2 ±0,1

Roztwór winianu (nr kat. 3873-10ML)
Bufor L(+)-winianowy, 0,335 mol/l, pH 4,9 ±0,1. Ostrzeżenie. Powoduje łagodne podrażnienie skóry.

Roztwór azotynu sodu (nr kat. 914-10ML)
Azotyn sodu, 0,1 mol/l

Roztwór cytrynianu (nr kat. 915-50ML)
Kwas cytrynianowy 18 mmol/l, cytrynian sodu 9 mmol/l, chlorek sodu 12 mmol/l i środek powierzchniowo czynny, pH 3,6 ±0,1

Roztwór hematoksyliny, Gill nr 3 (nr kat. GHS3-50ML)
Hematoksylina, certyfikowana, 6,0 g/l, C.I. 75290 jodan sodu, 0,6 g/l, siarczan glinu, 52,8 g/l i stabilizatory. Niebezpieczeństwo. Działa szkodliwie po połknięciu. Powoduje poważne uszkodzenie oczu. Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy.

Specjalne wymagane materiały niedołączone do zestawu

- Aceton, odczynnik ACS
- Formaldehyd 37%

Przechowywanie i stabilność

Przechowywać roztwór hematoksyliny w temperaturze pokojowej (18–26°C). Chronić przed światłem. Na etykietach odczynników znajduje się termin ważności.

Roztwór fosforanu naftolu AS-BI, zasadowy roztwór soli Fast Garnet GBC, roztwór octanu, roztwór winianu, roztwór azotynu sodu i roztwór cytrynianu należy przechowywać w temperaturze 2–8°C.

Przechowywać roztwór utrwalający w lodówce (2–8°C). Przed użyciem podgrzać do temperatury 18–26°C. Zachowuje trwałość do 2 miesięcy pod warunkiem przechowywania szczelnie zamkniętego w lodówce. W przypadku zauważenia parowania należy wylać roztwór utrwalający i przygotować świeży.

Pogorszenie jakości

Roztwór fosforanu naftolu AS-BI i roztwór winianu należy wyrzucić, jeśli wystąpi zmętnienie. Roztwór cytrynianu nadaje się do stosowania w przypadku braku wzrostu mikroorganizmów.

Roztwór hematoksyliny należy wylać, jeśli zmieni barwę na brązową (nadmierne utlenienie na skutek kontaktu z powietrzem) lub fioletową (utrata kwasowości).

Przygotowanie

Dostarczane odczynniki są gotowe do użycia.

Przygotować roztwór utrwalający, mieszając 25 ml roztworu cytrynianu, 65 ml acetonu i 8 ml 37% formaldehydu. Umieścić w szklanej butelce i szczelnie zamknąć.

Środki ostrożności

Wyroby te są przeznaczone do użytku w diagnostyce *in vitro* w warunkach laboratorium klinicznego. Niniejsze wyroby do diagnostyki *in vitro* są przeznaczone do użytku profesjonalnego i powinny być stosowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel. Wyroby do diagnostyki *in vitro* firmy Sigma-Aldrich mogą być stosowane wyłącznie przez personel laboratorium przeszkolony w zakresie obróbki potencjalnie zakaźnych próbek pochodzenia ludzkiego oraz w zakresie korzystania z mikroskopów i innego sprzętu laboratoryjnego, a także personel posiadający zdolność do rozróżniania kolorów i ostrość wzroku niezbędną do rozpoznawania barw i innych obiektów pod mikroskopem.

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności zalecanych w przypadku korzystania z odczynników laboratoryjnych. Odpady należy utylizować zgodnie ze wszystkimi przepisami prawa miejscowego, stanowego, wojewódzkiego i krajowego.

Procedura

Pobieranie próbek

Żadna ze znanych metod testowych nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi lub tkanki nie przeniosą zakażenia. W związku z tym wszystkie pochodne próbek krwi lub tkanek należy uznawać za potencjalne źródło zakażenia.

Można stosować rozmazy krwi, rozmazy szpiku kostnego, preparaty odciskowe tkanek oraz preparaty uzyskane metodą cytowirówki. EDTA lub heparyna służą jako środki przeciwzakrzepowe. Rozmazy krwi lub szpiku kostnego można przechowywać utrwalone w temperaturze pokojowej (18–26°C) przez kilka tygodni lub nieutrwalone przez kilka dni bez zauważalnej zmiany aktywności³. Nie należy wysyłać krwi pełnej do badań w innych laboratoriach. Należy wysłać szkiełka utrwalone lub nieutrwalone. Podczas transportu szkiełka należy przechowywać w chłodnym miejscu. Pozostawić rozmazy do wyschnięcia na co najmniej 1 godzinę przed utrwaleniem.

Uwagi

Skuteczność testu można monitorować poprzez badanie rozmazów krwi pobranych od osoby zdrowej.

Procedura

1. Wodę dejonizowaną w ilości potrzebnej na cały dzień należy podgrzać do temperatury 37°C. Przed użyciem sprawdzić temperaturę.
2. Doprowadzić roztwór utrwalający do temperatury pokojowej (18–26°C). Utrwalić szkiełka, zanurzając je w roztworze utrwalającym na 30 sekund. Dokładnie wypłukać w wodzie dejonizowanej: nie dopuścić do wyschnięcia szkiełek.
3. Do każdej z dwóch próbek dodać po 0,5 ml zasadowego roztworu soli diazoniowej Fast Garnet GBC i 0,5 ml roztworu azotynu sodu. Mieszać przez 30 sekund, delikatnie odwracając. Odstawić na 2 minuty.
4. Oznaczyć dwie zlewki o pojemności 100 ml literami A i B i, mieszając, dodać następujące składniki:

	Zlewka A	Zlewka B
Woda dejonizowana podgrzana do 37°C	45 ml	45 ml
Roztwór soli diazowej Fast Garnet GBC (krok 3)	1,0 ml	1,0 ml
Roztwór fosforanu naftolu AS-BI	0,5 ml	0,5 ml
Roztwór octanu	2,0 ml	2,0 ml
Roztwór winianu	–	1,0 ml

5. Oznaczyć słoiki Coplina literami A i B, a następnie przenieść roztwory ze zlewek do odpowiednich słoików Coplina. Roztwory w słoikach podgrzać w łaźni wodnej do temperatury 37°C. Przed dodaniem szkiełek należy sprawdzić, czy temperatura wynosi 37°C.
6. Umieścić szkiełka w słoikach Coplina i inkubować przez 1 godzinę w łaźni wodnej w temperaturze 37°C, chroniąc od światła.
7. Po 1 godzinie szkiełka należy dokładnie wypłukać w wodzie dejonizowanej, a następnie wykonać barwienie kontrastowe przez 2 minuty w roztworze hematoksyliny Gill nr 3.
8. Płukać przez kilka minut w zasadowej wodzie wodociągowej aż do uzyskania niebieskich jąder.
9. Osuszyć na powietrzu i ocenić mikroskopowo. Nie zaleca się nakładania szkiełek nakrywkowych, ponieważ barwnik z czasem blaknie.

Parametry użytkowe

Wyniki

Wybarwione rozmazy krwi są zazwyczaj oceniane subiektywnie pod kątem obecności lub braku enzymu odpornego na winian. W przypadku braku kwasu winowego większość leukocytów wykazuje ziarniste miejsca aktywności. Podczas inkubacji z winianem, w limfocytach i niektórych wyspecjalizowanych makrofagach można sporadycznie zaobserwować obecność ziarnistości⁴. W rozmazie krwi reakcję dodatnią stwierdza się, gdy obecne są więcej niż dwie komórki o rozproszonej i intensywnej aktywności, tj. ponad 40 ziarnistości⁴. Do oceny wybarwienia aparatu Gólgiego, charakterystycznego dla limfocytów T pochodzących z grasy, zaleca się procedurę Sigma-Aldrich nr 181.

Aktywność fosfatazy kwaśnej przejawia się obecnością fioletowych lub ciemnoczerwonych ziarnistości w cytoplazmie większości leukocytów.

Jeśli uzyskane wyniki różnią się od oczekiwanych, należy skontaktować się z serwisem technicznym firmy Sigma-Aldrich w celu uzyskania pomocy.

Charakterystyka wydajności analitycznej

Badania w zakresie wydajności analitycznej danych testów przeprowadzone względem wszystkich struktur docelowych potwierdzają 100-procentową czułość, swoistość i powtarzalność.

Nr kat.	Opis produktu	Struktura docelowa	Swoistość w obrębie testu	Czułość w obrębie testu	Swoistość między testami	Czułość między testami
3871	Roztwór fosforanu naftolu AS-BI	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3872	Zasadowy roztwór soli diazoniowej Fast Garnet GBC	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3873	Roztwór winianu	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3863	Roztwór octanu	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
914	Roztwór azotynu sodu	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
915	Roztwór cytrynianu	Miejsca aktywności	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
GHS3	Roztwór hematoksyliny No. 3	Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Ostrzeżenia i zagrożenia

Informacje na temat aktualnych zagrożeń i środków ostrożności można znaleźć w Karcie charakterystyki substancji oraz na etykiecie produktu.

387A:



- H290 Może powodować korozję metali.
- H302 Działa szkodliwie po połknięciu.
- H314 Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
- H317 Może powodować reakcję alergiczną skóry.
- H350 Może powodować raka.
- H373 Może powodować uszkodzenie narządów (nerki) poprzez długotrwałe lub narażenie powtarzane w przypadku połknięcia.
- H402 Działa szkodliwie na organizmy wodne.
- P201 Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
- P202 Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
- P234 Przechowywać wyłącznie w oryginalnym pojemniku.
- P260 Nie wdychać mgły/par.
- P264 Dokładnie umyć skórę po użyciu.
- P270 Nie jeść, nie pić i nie palić podczas używania produktu.
- P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
- P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
- P301 + P312 + P330 W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: W przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. Wypłukać usta.
- P301 + P330 + P331 W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: Wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów.
- P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem.
- P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.
- P305 + P351 + P338 + P310 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.
- P308 + P313 W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
- P333 + P313 W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
- P362 + P364 Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
- P390 Zebrać wyciek, aby zapobiec szkodom materialnym.
- P405 Przechowywać pod zamknięciem.
- P406 Przechowywać w pojemniku odpornym na korozję z odporną wkładką wewnętrzną.
- P501 Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierzonego zakładu utylizacji odpadów.

Jeśli podczas lub w wyniku stosowania tego wyrobu dojdzie do poważnego incydentu, prosimy o zgłoszenie go do producenta i/lub jego autoryzowanego przedstawiciela oraz właściwych organów krajowych.

Definicje symboli

Symbole są zgodne z definicjami pochodzącymi z normy EN ISO 15223-1:2021

	Producent		Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia		Kod partii
	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej		Deklaracja zgodności w Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia		Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przestroga
	Data produkcji		Importer
	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

- 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

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Pomoc serwisu technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Poprzednie wersje

Wer. 3.0	2014
Wer. 4.0	2016
Wer. 5.0	2023
	Przeniesiono do nowego szablonu z aktualnymi oznaczeniami marki. Uwzględniono informację o tym, że wyrób jest przeznaczony do użytku profesjonalnego w częściach „Przeznaczenie” i „Środki ostrożności”. Wprowadzono stosowne poprawki w części „Przeznaczenie” w celu uwzględnienia wytycznych IVDR. Zaktualizowano nazwę „Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej” na „Karcie charakterystyki substancji”. Zaktualizowano dane kontaktowe. Usunięto instrukcję dotyczącą pobierania próbek zgodnie z wytycznymi CLSI. Usunięto normę EN 980 i zmieniono na EN ISO 15223-1:2021 w części „Symbole”. Dodano dane kontaktowe na potrzeby zgłaszania zdarzeń niepożądanych. Usunięto numer referencyjny 5. Dodano część „Ostrzeżenia i zagrożenia”. Dodano informacje o przedstawicielu w Szwajcarii.
Wer. 6.0	2025
	Zaktualizowano informacje dotyczące karty charakterystyki substancji. Dodano informacje o importerze w Szwajcarii.



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



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

Inicjał „M” i Sigma-Aldrich są znakami towarowymi spółki Merck KGaA, Darmstadt, Niemcy lub jej podmiotów stowarzyszonych. Wszelkie inne znaki towarowe należą do odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje dotyczące znaków towarowych można uzyskać z powszechnie dostępnych źródeł.

Инструкции за употреба

Комплект за левкоцитна кисела фосфатаза (TRAP)

Процедура № 387



Предназначение

Комплектите за кисела фосфатаза Sigma-Aldrich са предназначени за хистологично оцветяване за обща лабораторна употреба. Реагентите за кисела фосфатаза са предназначени само за професионална „in vitro диагностична употреба“. Тази ръчна качествена хистохимична процедура демонстрира активност на кисела фосфатаза в левкоцити от препарати от човешка кръв, костен мозък и тъканини отпечатьци. Хистологичната визуализация на киселата фосфатаза, свързана с левкоцити, е уникална техника, която понастоящем се използва широко в медицината.

Използването на заместени нафтолови AS фосфати заедно с диазониевии соли за откриване на кисела фосфатаза в човешки левкоцити е докладвано за първи път от Goldberg и Barka.¹ Процедурата на Sigma-Aldrich за демонстриране на този ензим използва нафтол AS-BI фосфат и прясно диазотирана бърза гранатова GBC сол. Последното съединение е избрано, защото се свързва бързо при киселинно pH, образувайки силно неразтворими багрилни отлагания.

Повечето процедури, включително тази, предоставяна от Sigma-Aldrich, използват стабилни диазониевии соли. Те се образуват чрез реакция на ариламины с натриев нитрит в киселинна среда.² Полученият диазониев хлорид (обикновено нестабилен) може след това да бъде третиран със съединения като цинков хлорид, цинков сулфат или нафтаден-1,6-дисулфонат, образувайки стабилни соли. Тези стабилизатори могат да окажат значително инхибиране на някои ензимни системи, докато диазониевите хлориди са по-слабо инхибиращи.² Поради тази причина Sigma-Aldrich вече предлага стабилен разтвор на бърза гранатова GBC база и натриев нитрит за цитохимия с кисела фосфатаза. За допълнително опростяване на този метод е включен и стабилен воден разтвор на нафтол AS-BI фосфат. Наличието на тези стабилни разтвори позволява на потребителите да регулират работните обеми на реагентите според нуждите, елиминирайки излишната употреба.

Съгласно процедурата на Sigma-Aldrich кръвните тънки слоеве се инкубират в разтвор, съдържащ нафтол AS-BI фосфорна киселина и прясно диазотирана бърза гранатова GBC. Дубираните тънки слоеве може да бъдат третирани с разтвор, съдържащ L(+) -тартрат. Нафтол AS-BI, освободен чрез ензимна хидролиза, се свързва незабавно с бърза гранатова GBC, формирайки разтворими отлагания на кестеняво багрило в местата на активност. Клетките, съдържащи кисела фосфатаза, чувствителна към тартарова киселина, са лишени от активност. Мононуклеарните клетки, съдържащи фосфатаза, устойчива на тартарова киселина, не се повлияват от такова третиране.

Реагенти

Разтвор на нафтол AS-BI фосфорна киселина (кат. № 3871-10ML)

Нафтол AS-BI фосфорна киселина, 12,5 mg/mL

Разтвор на бърза гранатова GBC база (кат. № 3872-10ML)

Бърза гранатова GBC база, 7,0 mg/mL, C.I. 11160, в 0,4 mol/L солна киселина със стабилизатор. Опасно. Вреден при поглъщане. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергична кожна реакция. Може да причини рак.

Разтвор на ацетат (кат. № 3863-50ML)

Ацетатен буфер, 2,5 mol/L, pH 5,2 ± 0,1

Разтвор на тартрат (кат. № 3873-10ML)

L(+) -тартратен буфер, 0,335 mol/L, pH 4,9 ± 0,1. Предупреждение. Предизвиква слабо дразнене на кожата.

Разтвор на натриев нитрит (кат. № 914-10ML)

Натриев нитрит, 0,1 mol/L

Разтвор на цитрат (кат. № 915-50ML)

Лимонена киселина, 18 mmol/L, натриев цитрат, 9 mmol/L, натриев хлорид, 12 mmol/L и повърхностноактивно вещество, pH 3,6 ± 0,1

Хематоксилин разтвор по Джил № 3 (кат. № GHS3-50ML)

Хематоксилин, сертифициран, 6,0 g/L, C.I. 75290 натриев йодат, 0,6 g/L, алуминиев сулфат, 52,8 g/L, и стабилизатори. Опасно. Вреден при поглъщане. Предизвиква сериозно увреждане на очите. Използвайте предпазни ръкавици/предпазни очила/предпазна маска за лице.

Необходими специални материали, които не са осигурени

- Ацетон, ACS реагент
- Формалдехид, 37%

Съхранение и стабилност

Съхранявайте хематоксилин разтвора при стайна температура (18 – 26°C). Пазете от светлина. На етикетите на реагентите е посочен срокът на годност.

Съхранявайте разтвор на нафтол AS-BI фосфорна киселина, разтвор на бърза гранатова GBC база, разтвор на ацетат, разтвор на тартрат, разтвор на натриев нитрит и разтвор на цитрат при температура 2 – 8°C.

Съхранявайте фиксиращия разтвор в хладилник (2 – 8°C). Затоплете до 18 – 26°C преди употреба. Той е стабилен до 2 месеца, ако се съхранява плътно затворен в хладилник. Изхвърлете фиксиращия разтвор, ако забележите изпаряване, и пригответе нов.

Влошаване на качеството

Разтворът на нафтол AS-BI фосфорна киселина, разтворът на тартрат трябва да се изхвърлят, ако се появи мътност.

Разтворът на цитрат е подходящ за употреба при липса на микробен растеж.

Хематоксилин разтворът трябва да се изхвърли, ако стане кафяв (прекомерно окислен от въздуха) или лилав (загуба на киселинност).

Подготовка

Реагентите се предоставят готови за употреба.

Пригответе фиксиращ разтвор, като смесите 25 mL разтвор на цитрат, 65 mL ацетон и 8 mL 37% формалдехид. Поставете в стъклена бутилка и затворете плътно.

Предпазни мерки

Тези IVD са предназначени за *in vitro* диагностична употреба в клинична лабораторна среда. Тези IVD са само за професионална употреба от квалифициран персонал. С IVD на Sigma-Aldrich може да работи лабораторен персонал, който е обучен да бораи с потенциално инфекциозни човешки образци, да използва микроскопи и друго лабораторно оборудване и има цветово възприятие и зрителна острота, за да различава цветовете и други обекти под микроскоп.

При боравене с лабораторни реагенти трябва да се спазват обичайните предпазни мерки. Изхвърляйте отпадъците, като спазвате всички местни, държавни, локални или национални разпоредби.

Процедура

Взимане на проба

Никои известен тестов метод не може да гарантира напълно, че кръвните проби или тъканта няма да пренесат инфекция. Поради това всички кръвни производни или тъканни образци трябва да се считат за потенциално инфекциозни.

Могат да се използват тънки слоеве от кръв, костен мозък, препарати от тъканен отпечатък и цитоцентрифужни препарати. Като антикоагулант ще служи или EDTA, или хепарин. Тънки слоеве от кръв или костен мозък може да се съхраняват фиксирани при стайна температура (18 – 26°C) в продължение на няколко седмици или нефиксирани в продължение на няколко дни без забележима промяна в активността.³ Не изпращайте цяла кръв за анализ в други лаборатории. Изпращайте фиксирани или нефиксирани предметни стъкла. По време на транспортиране предметните стъкла трябва да се съхраняват на хладно. Оставете тънките слоеве да изсъхнат поне 1 час преди фиксиране.

Забележки

Действието на теста трябва да се мониторира чрез включване на кръвни тънки слоеве, приготвени от здраво лице.

Процедура

1. Загрейте предварително достатъчно количество дейонизирана вода за еднократна употреба до 37°C. Проверете температурата преди употреба.
2. Оставете фиксиращия разтвор да достигне стайна температура (18 – 26°C). Фиксирайте предметните стъкла, като ги потопите във фиксиращ разтвор за 30 секунди. Изплакнете щателно в дейонизирана вода: Не позволявайте на предметните стъкла да изсъхнат.
3. Към всяка от 2 тестови епруветки добавете 0,5 mL разтвор на бърза гранатова GBC база и 0,5 mL разтвор на натриев нитрит. Разбъркайте чрез внимателно обръщане в продължение на 30 секунди. Оставете да престои 2 минути.
4. Обозначете две лабораторни чаши от 100 mL с „А“ и „В“ и добавете следното, като разбърквате:

	Лабораторна чаша А	Лабораторна чаша В
Дейонизирана вода, предварително затоплена до 37°C	45 mL	45 mL
Разтвор на диазотирана бърза гранатова GBC (Стъпка 3)	1,0 mL	1,0 mL
Разтвор на нафтол AS-BI фосфат	0,5 mL	0,5 mL
Разтвор на ацетат	2,0 mL	2,0 mL
Разтвор на тартрат	–	1,0 mL

5. Етиктирайте бурканите на Колпин с „А“ и „В“ и прехвърлете разтворите от лабораторните чаши в съответния буркан на Колпин. Загрейте разтворите в буркани до 37°C във водна баня. Проверете дали температурата е 37°C, преди да добавите предметни стъкла.
6. Добавете предметните стъкла в буркани на Колпин и инкубирайте 1 час във водна баня при 37°C, защитени от светлина.
7. След 1 час изплакнете предметните стъкла обилно в дейонизирана вода, след което ги оцветете контрастно за 2 минути в хематоксилин разтвор по Джил № 3.
8. Изплакнете в продължение на няколко минути с алкална чешмяна вода за посиняване на ядрата.
9. Изсушете на въздух и оценете микроскопски. Не се препоръчва покриване с покривно стъкло, тъй като багрилото избледнява с времето.

Работни характеристики

Резултати

Оцветените кръвни тънки слоеве обикновено се оценяват субективно за наличие или отсъствие на тартрат-резистентен ензим. При липса на тартарова киселина повечето левкоцити демонстрират гранулирани места на активност. При инкубиране с тартрат в лимфоцитите и някои специализирани макрофаги може да се наблюдават отделни гранули.⁴ В кръвни натрииви положителна реакция се обозначава с наличието на повече от две клетки с дифузна и интензивна активност, т.е. повече от 40 гранули.⁴ За оценка на оцветяването на апарата на Голджи, характерно за лимфоцитите, получени от тимуса (Т-клетки), се препоръчва процедура на Sigma-Aldrich № 181.

Активността на киселата фосфатаза се проявява като пурпурни до тъмночервени гранули в цитоплазмата на повечето левкоцити.

Ако наблюдаваните резултати се очакват от очакваните, моля, свържете се с отдела по техническо обслужване на Sigma-Aldrich за съдействие.

Характеристики на аналитичното действие

Резултатите за аналитичното действие за дадените тестове, проведени върху всички целеви структури, потвърждават 100% чувствителност, специфичност и повторяемост.

Кат. №	Описание на продукта	Цел	Специ-фичност в рамките на анализа	Чувстви-телност в рамките на анализа	Специфич-ност между анализите	Чувстви-телност между анализите
3871	Разтвор на нафтол AS-BI фосфорна киселина	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
3872	Разтвор на бърза гранатова GBC база	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
3873	Разтвор на тартрат	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
3863	Разтвор на ацетат	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
914	Разтвор на натриев нитрит	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
915	Разтвор на цитрат	Места на активност	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
GHS3	Хематоксилин разтвор по Джил № 3	Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3

Предупреждения и опасности

Направете справка с информационния лист за безопасност и етикетирането на продукта за актуализирана информация за риск, опасност или безопасност.

387A:



H290 Може да бъде корозивно за металите.

H302 Вредно при поглъщане.

H314 Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите.

H317 Може да причини алергична кожна реакция.

H350 Може да причини рак.

H373 Може да причини увреждане на органите (бъбреците) при продължителна или повтаряща се експозиция при поглъщане.

H402 Вредно за водните организми.

P201 Преди употреба се снабдете със специални инструкции.

P202 Не използвайте, преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност.

P234 Да се съхранява само в оригиналния контейнер.

P260 Не вдишвайте дим или изпарения.

P264 Да се измие кожата старателно след употреба.

P270 Да не се яде, пие или пуши при употреба на продукта.

P280 Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

P280 Използвайте предпазни ръкавици, предпазно облекло, предпазни очила и предпазна маска за лице.

P301 + P312 + P330 ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар. Изплакнете устата.

P301 + P330 + P331 ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: Изплакнете устата. НЕ предизвиквайте повръщане.

P303 + P361 + P353 ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА (или косата): Незабавно свалете цялото замърсено облекло. Облейте кожата с вода/вземете душ.

P304 + P340 + P310 ПРИ ВДИШВАНЕ: Изведете лицето на чист въздух и го поставете в позиция, улесняваща дишането. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

P305 + P351 + P338 + P310 ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължете с изплакването. Незабавно се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.

P308 + P313 При явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински съвет/помощ.

P333+ P313 При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ.

P362 + P364 Свалете замърсеното облекло и го изперете преди повторна употреба

P390 Попийте разлятото, за да се предотвратят материални вреди.

P405 Да се съхранява под ключ.

P406 Да се съхранява в устойчив на корозия контейнер с устойчива вътрешна облицовка.

P501 Съдържанието/съдът да се изхвърли в одобрено предприятие за изхвърляне на отпадъци.

Ако по време на използване или в резултат на употреба на това изделие възникне сериозен инцидент, моля, докладвайте на производителя и/или на негов упълномощен представител, както и на съответния национален орган.

Дефиниции на символите

Символи, както са дефинирани в EN ISO 15223-1:2021

	Производител		Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба		Код на партида
	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз		Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност		Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

- 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

Информация за контакт

За да направите поръчка, моля, посетете нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com. За техническо обслужване, моля, посетете страницата за техническо обслужване на нашия уебсайт на адрес SigmaAldrich.com/techservice.

Хронология на редакциите

Ред. 3.0	2014 г.
Ред. 4.0	2016 г.
Ред. 5.0	2023 г.
	Прехвърлено на нов шаблон с текущо брендиране. Посочено за професионална употреба при предназначение и предпазни мерки. Редактирана предвидена употреба, за да се приведе в съответствие с насоките за IVDR. Актуализиран информационен лист за безопасност на материалите към информационния лист за безопасност. Актуализирана информация за контакт. Премахната инструкция за следване на CLSI за вземане на образци. Премахнат EN 980 и променен на EN ISO 15223-1:2021 за символи. Добавена информация за контакт при нежелани събития. Премахнат е референтен номер 5. Добавени предупреждения и опасности. Добавена информация за CH-REP.
Ред. 6.0	2025 г.
	Актуализирана информация за SDS. Добавена информация за вносителя за CH.

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Initial M и Sigma-Aldrich са търговски марки на Merck KGaA, Darmstadt, Германия или свързаните дружества на компанията. Всички други търговски марки са притежание на съответните им собственици. Подробна информация за търговските марки е налична чрез публично достъпни ресурси.

Lietošanas pamācība

Leukocyte Acid Phosphatase (TRAP) Kit

Procedūra Nr. 387



Paredzētais lietojums

Sigma-Aldrich Acid Phosphatase Kits ir paredzēti vispārējai lietošanai laboratorijā, lai veiktu histoloģisko iekrāsošanu. Acid Phosphatase reaģenti ir paredzēti tikai profesionālai "in vitro diagnostikai". Šī manuālā, kvalitatīvā, histoķīmiskā procedūra parāda skābes fosfatāzes aktivitāti cilvēku asiņu, kaulu smadzeņu un audu preparātu leikocītos. Ar leikocītiem saistītā skābes fosfatāzes histoloģiskā vizualizācija ir unikāls pagēmiens, ko pašlaik izmanto medicīnā.

Aizstāto naftola AS fosfātu izmantošana kopā ar diazonija sāļiem, lai noteiktu skābes fosfatāzi cilvēka leikocītos, pirmo reizi tika minēta *Goldberg un Barka* publikācijā¹. *Sigma-Aldrich* procedūrā šā enzīma noteikšanai izmanto naftola AS-BI fosfātu un Fast Garnet GBC sāli, kam nupat veikta diazotizācija. Pēdējais norādītais savienojums tika izvēlēts, jo tas ātri piesaistās skābes līmeņa pH apstākļos, veidojot īpaši slikti šķīstošu krāsas uzkrāšanos.

Vairumā procedūru, tostarp *Sigma-Aldrich* procedūrā, izmanto stabils diazonija sāļš. Tie veidojas, arlaminam reaģējot nātrija nitrātu skābes vidē². Tad iegūto diazonija hlorīdu (parasti nestabilu) var apstrādāt ar tādiem savienojumiem kā cinka hlorīds, cinka sulfāts vai naftalēna-1,6-disulfonāts, iegūstot stabilus sāļus. Šiem stabilizatoriem var būt izteikta dažādu enzīmu sistēmu inhibīcija, bet diazonija hlorīdiem šī īpašība ir mazāk izteikta³. Šā iemesla dēļ *Sigma-Aldrich* metodē tagad nodrošina stabili Fast Garnet GBC bāzes un nātrija nitrāta šķīdumu skābes fosfatāzes cetoķīmijas izmeklējumu veikšanai. Lai vēl vairāk vienkāršotu šo metodi, ir iekļauts ar stabils naftola AS-BI fosfāta ūdens šķīdums. Šo stabilo šķīdumu pieejamība ļauj lietotājiem pielāgot darba reagenta daudzumu atbilstoši vajadzībām, novēršot nelietderīgu izmantošanu.

Saskaņā ar *Sigma-Aldrich* procedūru asins plēvītes tiek inkubētas šķīdumā, kas satur naftola AS-BI fosforskābi un Fast Garnet GBC, kam nupat veikta deazotizācija. Divkārsas plēvītes var apstrādāt ar šķīdumu, kas satur L(+)-tartrātu. Naftols AS-BI, kas izdalās enzīmu hidrolīzes rezultātā, nekavējoties piesaistās Fast Garnet GBC, veidojot šķīstošu brūnsarkanu krāsas nosēdumu aktivitātes zonās. Šūnas, kas satur pret vīnskābi jutīgu skābes fosfatāzi, nav aktīvas. Šīs monokodola šūnas, kas satur pret vīnskābi rezistentu fosfatāzi, šāda apstrāde neietekmē.

Reaģenti

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution (kat. Nr. 3871-10ML)

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid, 12,5 mg/ml

Fast Garnet GBC Base Solution (kat. Nr. 3872-10ML)

Fast Garnet GBC bāze, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, 0,4 mol/l sāļsskābē ar stabilizatoru. Bīstami! Kaitīgs, ja norij. Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus. Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Var izraisīt vēzi.

Acetate Solution (kat. Nr. 3863-50ML)

Acetāta buferis, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Tartrate Solution (kat. Nr. 3873-10ML)

L(+)-tartrāta buferis, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Brīdinājums! Izraisa vieglu ādas kairinājumu.

Sodium Nitrite Solution (kat. Nr. 914-10ML)

Nātrija nitrīts, 0,1 mol/l

Citrate Solution (kat. Nr. 915-50ML)

Citronskābe, 18 mmol/l, nātrija citrāts, 9 mmol/l, nātrija hlorīds, 12 mmol/l, un surfaktants, pH 3,6 ± 0,1

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (kat. Nr. GHS3-50ML)

Hematoksilīns, sertificēts, 6,0 g/l, C.I. 75290, nātrija jodāts, 0,6 g/l, alumīnija sulfāts, 52,8 g/l, un stabilizatori. Bīstami! Kaitīgs, ja norij. Izraisa nopietnus acu bojājumus. Izmantot aizsargcimdus / acu aizsargus / sejas aizsargus.

Speciālie nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

- Acetone, ACS Reagent
- Formaldehīds, 37 %

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabājiet Hematoxylin Solution istabas temperatūrā (18–26 °C). Sargāt no gaismas. Derīguma termiņš ir norādīts reagenta marķējumā.

Uzglabājiet Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution, Fast Garnet GBC Base Solution, Acetate Solution, Tartrate Solution, Sodium Nitrite Solution un Citrate Solution 2–8 °C temperatūrā.

Uzglabājiet Fixative Solution ledusskapī (2–8 °C). Pirms lietošanas sasildiet līdz 18–26 °C. Stabils līdz 2 mēnešiem, ja uzglabā cieši noslēgtu ledusskapī. Izmetiet Fixative Solution, ja tiek konstatēta iztvaikošana, sagatavojiet jaunu.

Stāvokļa pasliktināšanās

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution, Tartrate Solution jāizmet, ja tie kļūst duļķaini.

Citrāta šķīdums ir piemērots lietošanai, ja nav redzamas mikrobiālās augšanas pazīmes.

Hematoxylin Solution jāizmet, ja šķīdums kļūst brūns (pārāk oksidējies gaisā) vai purpursarkans (skābuma zudums).

Sagatavošana

Reaģenti tiek nodrošināti gatavi lietošanai.

Sagatavojiet fiksēšanas šķīdumu, sajaucot 25 ml citrāta šķīdums, 65 ml acetona un 8 ml 37 % formaldehīda. Ievietojiet stikla pudelē un cieši noslēdziet.

Piesardzības pasākumi

Šis IVD ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikai klīniskās laboratorijas vidē. Šis IVD ir paredzēts profesionālai lietošanai un tikai kvalificētam personālam. Sigma-Aldrich IVD drīkst lietot laboratorijas darbinieki, kas apmācīti rīkoties ar varbūtēji infekcioziem cilvēku paraugiem, lietot mikroskopus un citu laboratorijas aprīkojumu, un kuriem ir atbilstoša krāsu uztvere un redzes asums, lai spētu atšķirt krāsas un citus objektus mikroskopā.

Rīkojoties ar laboratorijas reaģentiem, ir jāievēro standarta piesardzības pasākumi. Utilizējiet atkritumus saskaņā ar vietējiem, štata, provinces vai valsts noteikumiem.

Procedūra

Paraugu ņemšana

Nav zināma neviena metode, kas sniegtu pilnīgu pārliecību, ka ar asins paraugiem vai audiem netiks pārnestas infekcijas. Tāpēc visus asins produktus vai audu paraugus jāuzskata par potenciāli infekcioziem.

Var izmantot asinis, kaulu smadzeņu plēvītes, audu preparātus un citocentrifugas preparātus. EDTA vai heparīns būs antikoagulanti. Asins vai kaulu smadzeņu plēvītes var uzglabāt fiksētas istabas temperatūrā (18–26 °C) vairākas nedēļas vai nefiksētas vairākas dienas, ievērojami nemainoties to aktivitātei³. Nesūtiēt pilnasinis testēšanai citās laboratorijās. Sūtiēt fiksētus vai nefiksētus priekšmetstikļipus. Pārvadāšanas laikā priekšmetstikļipiem jāatrodas vēsumā. Pirms fiksācijas ļaujiet plēvītēm nožūt vismaz 1 stundu.

Piezīmes

Testa veikspēju var uzraudzīt, iekļaujot asins plēvītes, kas sagatavotas, izmantojot veselu personu paraugus.

Procedūra

- Iepriekš uzsildiet dienu nepieciešamo dejonizēta ūdens daudzumu līdz 37 °C. Pirms lietošanas pārbaudiet temperatūru.
- Ļaujiet fiksēšanas šķīdumam sasilt līdz istabas temperatūrai (18–26 °C). Fiksējiet, iegremdējot fiksēšanas šķīdumā uz 30 sekundēm. Rūpīgi noskalojiet ar dejonizētu ūdeni. Neļaujiet priekšmetstikļipiem nožūt.
- Katrā no 2 testa stobriņiem iepildiet 0,5 ml Fast Garnet GBC Base Solution un 0,5 ml Sodium Nitrite Solution. Sajauciet, viegli apvēršot 30 sekundes. Ļaujiet nostāvēties 2 minūtes.
- Marķējiet divas 100 ml vārglāzes A un B un pievienojiet tālāk norādīto sajaukšanas laikā.

	Vārglāze A	Vārglāze B
Dejonizēts ūdens, kas iepriekš sasildīts līdz 37 °C	45 ml	45 ml
Fast Garnet GBC Solution, kam veikta deazotizācija (3. darbība)	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

- Marķējiet Koplina traukus A un B pārnēsiet šķīdumus no vārglāzēm uz atbilstošu Koplina traukus. Sasildiet šķīdumus traukos līdz 37 °C, izmantojot silta ūdens vannu. Pirms priekšmetstikļu pievienošanas pārliecinieties, ka temperatūra ir 37 °C.
- Ievietojiet priekšmetstikļipus Koplina traukos un inkubējiet 1 stundu 37 °C ūdens vannā, sargājot no gaismas.
- Pēc 1 stundas rūpīgi noskalojiet priekšmetstikļipus dejonizētā ūdenī, tad vieciat kontrastējošu iekrāsošanu 2 minūtes Hematoxylin Solution, Gill No. 3.
- Skalojiet vairākas minūtes sārmainā krāna ūdenī līdz ziliem kodoliem.
- Nožāvējiet gaisā un novērtējiet ar mikroskopu. Segstikļu izmantošana nav ieteicama, jo laika gaitā krāsvielu izbalē.

Veiktspējas raksturlielumi

Rezultāti

Iekrāsotas asins plēvītes parasti novērtē subjektīvi, lai noteiktu iespējamo pret tartrātu rezistentu enzīmu. Ja nav vīnskābes, vairumā leikocītu ir granulāras aktivitātes zonas. Inkubējot ar tartrātu, limfocītos dažkārt var novērot kādu granulu un dažus specializētus makrofāgus⁴. Asins uztriepes ar pozitīvu reakciju atklāj vismaz divas šūnas ar difūzu un intensīvu aktivitāti, proti, vairāk nekā 40 granulām⁴. Lai novērtētu Golgi iekrāsošanas, kas raksturīga no timusa iegūtiem limfocītiem (T šūnas), ieteicams izmantot *Sigma-Aldrich* procedūru Nr. 181.

Acid Phosphatase aktivitāte izskatās kā purpursarkanas līdz tumši sarkanas granulas vairumā leikocītu citoplazmā.

Ja novērotie rezultāti atšķiras no gaidāmajiem rezultātiem, lūdzu, sazinieties ar Sigma-Aldrich Tehniskā atbalsta dienestu, lai saņemtu palīdzību.

Analītiskās veiktspējas raksturlielumi

Analītiskās veiktspējas rezultāti minētajos testos, kas veikti ar visām mērķa struktūrām, apstiprina 100% jutību, specifiskumu un atkārtojamību.

Kat. Nr.	Produkta apraksts	Mērķis	Specifiskums analīzes laikā	Jutība analīzes laikā	Starpanalīžu specifiskums	Starpanalīžu jutība
3871	Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
3872	Fast Garnet GBC Base Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
3873	Tartrate Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
3863	Acetate Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
914	Sodium Nitrite Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
915	Citrate Solution	Iedarbības vietas	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
GHS3	Gila hematoksilīna šķīdums Nr. 3	Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3

Brīdinājumi un riski

Jaunāko informāciju par riskiem, bīstamību vai drošumu skatiet Drošības datu lapā un produkta marķējumā.

387A:



H290 Var kodīgi iedarboties uz metāliem.

H302 Kaitīgs, ja norij.

H314 Izraisa smagus ādas apdegumus un acu bojājumus.

H317 Var izraisīt alerģisku ādas reakciju.

H350 Var izraisīt vēzi.

H373 Var izraisīt orgānu (nieru) bojājumus ilgstošas vai atkārtotas iedarbības rezultātā, ja norij.

H402 Kaitīgs ūdens organismiem.

P201 Pirms lietošanas ņemt speciālu instruktažu.

P202 Neizmantojot pirms nav izlasīti un saprasti visi brīdinājumi.

P234 Turēt tikai oriģinālā iepakojumā.

P260 Izvairīties ieelpot dūmus vai izgarojumus.

P264 Pēc izmantošanas kārtīgi nomazgāt ādu.

P270 Neēst, nedzert un nesmēķēt produkta izmantošanas laikā

P280 Izmantot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.

P280 Izmantot aizsargcimdus / aizsargdrēbes / acu aizsargus / sejas aizsargus.

P301 + 312 + P330 NORĪŠANAS GADĪJUMĀ: sazinieties ar SAINDĒŠANAS INFORMĀCIJAS CENTRU/ ārstu, ja jums ir slikta pašsajūta. Izskalojot muti.

P301 + P330 + P331 NORĪŠANAS GADĪJUMĀ: Izskalojot muti. NEIZRAISĪT vemšanu.

P303 + P361 + P353: SASKARĒ AR ĀDU (vai matiem): nekavējoties novilkt visu piesārņoto apģērbu. Noskalot ādu ar ūdeni/dušu.

P304 + P340 + P310 JA IEELPO: nogādāt cietušo svaigā gaisā un nodrošināt netraucētu elpošanu. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANAS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.

P305 + P351 + P338 + P310 SASKARĒ AR ACĪM: uzmanīgi izskalojot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemot kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalojot. Nekavējoties sazinieties ar SAINDĒŠANAS INFORMĀCIJAS CENTRU/ārstu.

P308 + P313 Ja nokļūst saskarē vai saistīts: lūdziet palīdzību medikiem.

P333 + P313 Ja rodas ādas iekaisums vai izsitumi: lūdziet palīdzību medikiem.

P362 + P364 Pirms atkārtotas lietošanas piesārņoto apģērbu izmazgāt.

P390 Uzsūkt izšļakstījumus, lai novērstu materiālus zaudējumus.

P405 Glabāt slēgtā veidā.

P406 Glabāt tvertnē, kas aizsargā pret koroziju ar iekšējo pretkorozijas izolāciju.

P501 Atbrīvoties no satura/tvertnes apstiprinātā atkritumu utilizācijas punktā.

Ja šīs ierīces lietošanas laikā vai tās lietošanas rezultātā ir noticis nopietns incidents, lūdzu, ziņojiet par to ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī kompetentajai iestādei jūsu valstī.

Simbolu definīcijas

Simboli atbilst definīcijām standartā EN ISO 15223-1:2021

	Ražotājs		Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju		Partijas kods
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā		Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš		Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs
	Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē		

Atsauces

- 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
- Jancikla 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

Kontaktinformācija

Lai veiktu pasūtījumu, apmeklējiet mūsu tīmekļvietni SigmaAldrich.com. Lai sazinātos ar Tehniskā atbalsta dienestu, apmeklējiet tehniskā atbalsta dienesta lapu mūsu tīmekļvietnē SigmaAldrich.com/techservice.

Pārskatīto versiju vēsture

Vers. 3.0	2014
Vers. 4.0	2016
Vers. 5.0	2023
Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadajā ar paredzēto lietojumu un piesardzības pasākumiem norādīta profesionāla lietošana. Pārskatīts paredzētais lietojums, lai to pieskaņotu IVDR vadlīnijām. Termins "Materiālu drošības datu lapa" mainīts uz "Drošības datu lapa". Atjaunināta kontaktinformācija. Svītrots norādījums paraugu ņemšanā ievērot CLSI. Svītrots EN 980 un aizstāts ar standartu EN ISO 15223-1:2021 attiecībā uz simboliem. Pievienota kontaktinformācija ziņošanai par nevēlamiem notikumiem. Dzēsts 5. atsaucē numurs. Pievienota sadāja "Brīdinājumi un riski". Pievienota CH-REP informācija.	
Vers. 6.0	2025
Atjaunināta SDS informācija. Pievienota CH importētāja informācija.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Iniciālais M un Sigma-Aldrich ir preču zīmes, kas pieder uzņēmumam Merck KGaA, Darmstatē, Vācijā, vai tā saistītajiem uzņēmumiem. Visas pārējās preču zīmes pieder to attiecīgajiem īpašniekiem. Sīkāka informācija par preču zīmēm sniegta publiski pieejamos avotos.

Naudojimo instrukcija

Leukocitų rūgštinės fosfatazės (TRAP) rinkinys

Procedūros Nr. 387



Paskirtis

„Sigma-Aldrich“ rūgštinės fosfatazės rinkiniai skirti naudoti kaip bendrosios paskirties laboratoriniai histologiniai dažai. Rūgštinės fosfatazės reagentai skirti tik profesionaliam *diagnostiniam naudojimui in vitro*. Ši rankinė, kokybinė, histocheminė procedūra rodo rūgštinės fosfatazės aktyvumą žmogaus kraujo, kaulų čiulpų ir audinių prisilietimo preparatų leukocituose. Su leukocitais susijusios rūgštinės fosfatazės histologinis vizualizavimas yra unikalus metodas, šiuo metu plačiai naudojamas medicinoje.

Apie pakeistų naftolio AS fosfatų naudojimą kartu su diazonio druskomis rūgštinės fosfatazės nustatymui žmogaus leukocituose pirmą kartą pranešė Goldberg ir Barka.¹ Sigma-Aldrich procedūra šiam fermentui įrodyti naudoja naftolio AS-BI fosfatą ir šviežiai diazotizuotą greitojo granato GBC druską. Pastarasis junginys buvo pasirinktas todėl, kad rūgštiniame pH jis greitai poruojasi, sudarydamas labai netirpias dažų nuosėdas.

Daugelyje procedūrų, įskaitant „Sigma-Aldrich“, naudojamos stabilios diazonio druskos. Jie susidaro arilaminui reaguojant su natrio nitritu rūgštinėje terpėje.² Gautą diazonio chloridą (paprastai nestabilių) galima apdoroti tokiais junginiais kaip cinko chloridas, cinko sulfatas arba naftalen-1,6-disulfonatas, taip susidarant stabilioms druskoms. Šie stabilizatoriai gali žymiai slopinti kai kurias fermentines sistemas, o diazonio chloridai yra mažiau slopinantys.² Dėl šios priežasties „Sigma-Aldrich“ dabar yra stabilus greito granato GBC bazės ir natrio nitrito tirpalas rūgštinės fosfatazės citochemijai. Siekiant dar labiau supaprastinti šį metodą, taip pat pridėdamos stabilus vandeninis naftolio AS-BI fosfato tirpalas. Šių stabilių sprendimų prieinamumas leidžia vartotojams koreguoti darbinis reagentų tūrius pagal poreikius, pašalinant atliekas.

Pagal Sigma-Aldrich procedūrą kraujo plėvelės inkubuojamos tirpale, kurio sudėtyje yra naftolio AS-BI fosforo rūgšties ir šviežiai diazotizuoto greito granato GBC. Pasikartojančias plėveles galima apdoroti tirpalu, kurio sudėtyje yra L(+)-tartrato. Fermentinės hidrolizės būdu atpalaiduotas naftolis AS-BI iš karto susijungia su greitu granatu GBC, sudarydamas netirpias kaštoninių dažų nuosėdas aktyvumo vietoje. Ląstelės, kuriose yra vyno rūgščiai jautrios rūgštinės fosfatazės, yra neaktyvios. Toks gydymas neturi įtakos vienbranduolėms ląstelėms, kuriose yra vyno rūgščiai atsparios fosfatazės.

Reagentai

Naftolio AS-BI fosforo rūgšties tirpalas (kat. Nr. 3871-10ML)
Naftolio AS-BI fosforo rūgštis, 12,5 mg/ml

Greito granato GBC bazinis tirpalas (kat. Nr. 3872-10ML)
Greito granato GBC bazė, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, 0,4 mol/l druskos rūgštyje su stabilizatoriumi. Pavojus. Kenksminga prarijus. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Gali sukelti alerginę odos reakciją. Gali sukelti vėžį.

Acetato tirpalas (kat. Nr. 3863-50ML)
Acetatinis buferis, 2,5 mol/l, pH 5,2 ± 0,1

Tartrato tirpalas (kat. Nr. 3873-10ML)
L(+)-tartrato buferis, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Įspėjimas. Sukelia lengvą odos dirginimą.

Natrio nitrito tirpalas (kat. Nr. 914-10ML)
Natrio nitritas, 0,1 mol/l

Citrato tirpalas (kat. Nr. 915-50ML)
Citrinų rūgštis, 18 mmol/l, natrio citratas, 9 mmol/l, natrio chloridas, 12 mmol/l ir pavišinio aktyvumo medžiaga, pH 3,6 ± 0,1

Hematoksilino tirpalas, žiaunos Nr. 3 (kat. Nr. GHS3-50ML)
Hematoksilinas, sertifikuotas, 6,0 g/l, C.I. 75290, natrio jodatas, 0,6 g/l, aliuminio sulfatas, 52,8 g/l ir stabilizatoriai. Pavojus. Kenksminga prarijus. Smarkiai pažeidžia akis. Mūvėti apsaugines pirštines / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Acetonas, ACS reagentas
- Formaldehidas, 37%

Laikymas ir stabilumas

Hematoksilino tirpalą laikykite kambario temperatūroje (18–26 °C). Saugoti nuo šviesos. Ant reagento etiketės nurodyta galiojimo data.

Naftolio AS-BI fosforo rūgšties tirpalą, greitojo granato GBC bazinį tirpalą, acetato tirpalą, tartrato tirpalą, natrio nitrito tirpalą ir citrato tirpalą laikykite 2–8 °C temperatūroje.

Fiksavimo tirpalą laikykite šaltai (2–8 °C). Prieš naudojimą pašildykite iki 18–26 °C. Stabilus iki 2 mėnesių, jei laikomas sandariai uždarytas šaldytuve. Jei pastebimas garavimas, išmeskite fiksavimo tirpalą ir paruoškite šviežią.

Irimas

Naftolio AS-BI fosforo rūgšties tirpalas, tartrato tirpalas turi būti pašalintas, jei susidaro drumstumas.

Citrato tirpalas tinka naudoti be mikrobų augimo.

Hematoksilino tirpalą reikia išmesti, jei tirpalas tampa rudas (per daug oksiduotas iš oro) arba violetinis (prarandamas rūgštingumas).

Pasiruošimas

Reagentai pateikiami paruošti naudoti.

Paruoškite fiksavimo tirpalą, derindami 25 ml citrato tirpalo, 65 ml acetono ir 8 ml 37% formaldehido. Įdėkite į stiklinį butelį ir sandariai uždarykite.

Atsargumo priemonės

Rinkinyje esančios IVD medžiagos yra skirtos *in vitro* diagnostikai klinikinės laboratorijos aplinkoje. Šios IVD skirtos naudoti tik kvalifikuotam personalui. Sigma-Aldrich IVD medžiagas gali naudoti laboratorijos darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su žmonių mėginiais, kurie gali būti užkrečiami, naudoti mikroskopus ir kita laboratorinę įrangą bei turi spalvų suvokimą ir regėjimo aštrumą, kad galėtų atskirti spalvas ir kitus objektus mikroskopu.

Dirbant su laboratoriniais reagentais reikia laikytis įprastų atsargumo priemonių. Išmeskite atliekas laikydamiesi visų vietinių, valstijos, provincijos ar nacionalinių taisyklių.

Procedūra

Mėginio paėmimas

Joks žinomas tyrimo metodas negali visiškai užtikrinti, kad kraujo mėginiai ar audiniai neperduos infekcijos. Todėl visi kraujo dariniai ar audinių mėginiai turėtų būti laikomi potencialiai užkrečiamais.

Gali būti naudojamos kraujo, kaulų čiulpų plėvelės, audinių prisilietimo preparatai ir citocentrifuginiai preparatai. Antikoaguliantais bus EDTA arba heparinas. Kraujo ar kaulų čiulpų plėvelės gali būti laikomos užfiksuotos kambario temperatūroje (18–26 °C) kelias savaites arba nefiksuotos kelias dienas be pastebimų aktyvumo pokyčių.³ Nesiųskite viso kraujo tyrimui kitose laboratorijose. Siųsti fiksuotus arba nefiksuotus mikropreparatus. Pervežimo metu mikropreparatus reikia laikyti vėsioje vietoje. Leiskite plėvelėms išdžiūti bent 1 valandą prieš fiksavimą.

Pastabos

Tyrimo atlikimas turėtų būti stebimas įtraukiant kraujo juostelę, paruoštą iš sveiko asmens.

Procedūra

- Pakankamą kiekį dejonizuoto vandens pašildykite iki 37 °C per dieną. Prieš naudodami patikrinkite temperatūrą.
- Fiksavimo tirpalą sušildykite iki kambario temperatūros (18–26 °C). Pritvirtinkite stiklelius panardinami juos į fiksavimo tirpalą 30 sekundžių. Kruopščiai nuplaukite dejonizuotu vandeniu: Neleiskite stikleliams išdžiūti.
- Į kiekvieną iš 2 mėgintuvėlių įpilkite 0,5 ml greito granato GBC bazinio tirpalo ir 0,5 ml natrio nitrito tirpalo. Sumaišykite švelniai apversdami 30 sekundžių. Palikite pastovėti 2 minutes.
- Pažymėkite dvi 100 ml laboratorines stiklines A ir B ir maišydami įpilkite:

	Menzūra A	Menzūra B
Dejonizuotas vanduo pašildytas iki 37 °C	45 mL	45 mL
Diazotizuotas greito granato GBC sprendimas (3 žingsnis)	1,0 mL	1,0 mL
Naftolio AS-BI fosfato tirpalas	0,5 mL	0,5 mL
Acetato tirpalas	2,0 mL	2,0 mL
Tartrato tirpalas	–	1,0 mL

- Pažymėkite Coplin stiklainius A ir B ir perkelkite tirpalus iš laboratorinių stiklainių į atitinkamą Coplin stiklainį. Šildykite tirpalus stiklainiuose iki 37 °C temperatūros vandens vonioje. Prieš pridėdami mikropreparatus patikrinkite, ar temperatūra yra 37 °C.
- Įdėkite mikropreparatus į „Coplin“ stiklainius ir inkubuokite 1 valandą 37 °C vandens vonioje, apsaugotoje nuo šviesos.
- Po 1 valandos kruopščiai išskalaukite stiklelius dejonizuotame vandenyje, tada 2 minutes nudažykite hematoksilino tirpalu, žiaunoje Nr. 3.
- Kelias minutes skalaukite šarminiame vandentiekio vandenyje iki mėlynų branduolių.
- Nusausinkite oru ir įvertinkite mikroskopu. Dangos paslinkti nerekomenduojama, nes dažai laikui bėgant išblunka.

Veikimo charakteristikos

Rezultatai

Dažytos kraujo plėvelės paprastai vertinamos subjektyviai dėl tartrato atsparaus fermento buvimo ar nebuvimo. Nesant vyno rūgšties, dauguma leukocitų pasižymi granuliuotomis veikimo vietomis. Inkubuojant su tartratu, kartais limfocituose ir kai kuriuose specializuotose makrofaguose gali būti pastebėta granuliu.⁴ Kraujo tepinėliuose teigiama reakcija žymima daugiau nei dviejų ląstelių buvimu su difuziniu ir intensyviu aktyvumu, t.y. daugiau nei 40 granuliu.⁴ Norint įvertinti Golgi dažymą, būdingą užkrūčio liaukos limfocitams (T ląstelėms), rekomenduojama Sigma-Aldrich procedūra Nr. 181.

Rūgštinės fosfatazės aktyvumas daugumos leukocitų citoplazmoje pasireiškia nuo rausvos iki tamsiai raudonos spalvos granulėmis.

Jei pastebėti rezultatai skiriasi nuo laukiamų rezultatų, kreipkitės pagalbos į „Sigma-Aldrich“ techninę tarnybą.

Analitinio veikimo charakteristikos

Pateiktų tyrimų, atliktų su visomis tikslinėmis struktūromis, analitinio efektyvumo rezultatai patvirtina 100 % jautrumą, specifiškumą ir pakartojamumą.

Kat. Nr.	Produkto aprašymas	Tikslas	Tyrimo specifiškumas	Jautrumas tyrimo metu	Specifiškumas tarp tyrimų	Jautrumas tarp tyrimų
3871	Naftolio AS-BI fosforo rūgšties tirpalas	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
3872	„Fast Garnet GBC Base Solution“	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
3873	Tartrato tirpalas	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
3863	Acetato tirpalas	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
914	Natrio nitrito tirpalas	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
915	Citrato tirpalas	Veiklos vietos	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
GHS3	Hematoksilino tirpalas, Gill Nr. 3	Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Išspėjimai ir pavojai

Atnaujintą rizikos, pavojaus ar saugos informaciją rasite saugos duomenų lape ir gaminio etiketėje.

387A:



- H290 Gali ėsdinti metalus.
- H302 Kenksminga prarijus.
- H314 Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis.
- H317 Gali sukelti alerginę odos reakciją.
- H350 Gali sukelti vėžį.
- H373 Prarijus gali pakenkti organams (inkstams) dėl ilgalaikio ar pakartotinio poveikio.
- H402 Kenksminga vandens organizmams.
- P201 Prieš naudodami gaukite specialias instrukcijas.
- P202 Nenaudokite, kol neperskaitėte ir nesupratote visų saugos priemonių.
- P234 Laikyti tik originalioje pakuotėje.
- P260 Neįkvėpti rūko ar garų.
- P264 Po naudojimo kruopščiai nuplaukite odą.
- P270 Naudojant šį gaminį, nevalgyti, negerti ir nerūkyti.
- P280 Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių/ veido apsaugos priemonės.
- P280 Mūvėti apsaugines pirštines, dėvėti apsauginius drabužius, naudoti akių ir veido apsaugos priemonės.
- P301 + P 312 + P330 PRARIJUS: pasijutus blogai, skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ. Išskalauti burną.
- P301 + P330 + P331 PRARIJUS: Išskalauti burną. NESKATINTI vėmimo.
- P303 + P361 + P353 JEI PATEKO ANT ODOS (ar plaukų): nedelsiant nuvilkti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu / čiurkšle.
- P304 + P340 + P310 ĮKVĖPUS: Išnešti žmogų į gryną orą ir pasirūpinti, kad jis galėtų patogiai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojui.
- P305 + P351 + P338 + P310 PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / gydytojui.
- P308 + P313 Jei sąlytis ar susirūpinimas: Kreiptis į gydytoją.
- P333 + P313 Jei atsiranda odos sudirginimas ar bėrimas: Kreiptis į gydytoją.
- P362+P364 Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant.
- P390 Sugerti išsiliejimą, kad būtų išvengta materialinės žalos.
- P405 Laikyti užrakintą.
- P406 Laikyti korozijai atsparioje talpykloje su atspariu vidiniu sluoksniu.
- P501 Turinį/ talpyklą išmeskite į patvirtintą atliekų šalinimo įmonę.

Jei naudojant šį įrenginį arba dėl jo naudojimo įvyko rimtas incidentas, praneškite apie tai gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui bei savo nacionalinei institucijai.

Simbolių apibrėžimai

Simboliai, kaip apibrėžta EN ISO 15223-1:2021

	Gamintojas		Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas		Partijos kodas
	Igaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje		Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data		In vitro diagnostikos medicinos prietaisas
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

- 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
- Jancikla 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

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com](https://sigmaaldrich.com). Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje [SigmaAldrich.com/techservice](https://sigmaaldrich.com/techservice).

Peržiūrų istorija

3.0 red.	2014
4.0 red.	2016
5.0 red.	2023
Perkelta į naują šabloną su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemonės. Peržiūrėta paskirtis, siekiant suderinti su IVDR gairėmis. Atnaujintas medžiagos saugos duomenų lapas į saugos duomenų lapą. Atnaujinta kontaktinė informacija. Pašalintas nurodymas laikytis CLSI dėl mėginių paėmimo. Išimtas EN 980 ir pakeistas į EN ISO 15223-1:2021 simboliams. Pridėta nepageidaujamo įvykio kontaktinė informacija. Pašalintas nuorodos numeris 5. Pridėti išpėjimai ir pavojai. Pridėta atstovo Šveicarijoje informacija.	
6.0 red.	2025
Atnaujinta saugos duomenų lapo informacija. Pridėta CH importuotojo informacija.	

	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		Sigma - Aldrich Chemie GmbH Industriestraße 25 CH-9470 Buchs		

Initialas „M“ ir „Sigma-Aldrich“ yra „Merck KGaA“, Darmštatas, Vokietija arba jos filialų prekės ženklai. Visi kiti prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė. Išsamią informaciją apie prekių ženklus galima rasti viešai prieinamuose ištekliuose.

Návod na použitie

Súprava pre leukocytárnu kyslú fosfatázu (TRAP)

Postup č. 387



Určené použitie

Súpravy na stanovenie kyslej fosfatázy spoločnosti Sigma-Aldrich sú určené na všeobecné laboratórne použitie ako histologické farbivo. Reagencie kyslej fosfatázy sú určené len na odborné „diagnostické použitie *in vitro*“. Tento manuálny, kvalitatívny, histochemický postup preukazuje aktivitu kyslej fosfatázy v leukocytoch ľudskej krvi, kostnej drene i tkanivových dotykových preparátoch. Histologická vizualizácia kyslej fosfatázy asociovaná s leukocyty je jedinečná technika, ktorá sa v súčasnosti v medicíne bežne používa.

Použitie substituovaných naftol AS fosfátov v spojení s diazóniovými soľami na detekciu kyslej fosfatázy v ľudských leukocytoch prvýkrát opísali Goldberg a Barka.¹ Postup spoločnosti Sigma-Aldrich na preukázanie tohto enzýmu využíva naftol AS-BI fosfát a čerstvo diazotovanú soľ Fast Garnet GBC. Druhá menovaná zlúčenina bola vybraná, pretože sa rýchlo spája pri kyslom pH a vytvára vysoko nerozpustné usadeniny farbiva.

Väčšina postupov, vrátane postupu predloženého spoločnosťou Sigma-Aldrich, používa stabilné diazóniové soli. Tie vznikajú reakciou arylamínu s dusitanom sodným v kyslom prostredí.² Vzniknutý diazóniumchlorid (zvyčajne nestabilný) sa potom môže spracovať so zlúčeninami, ako je chlorid zinočnatý, síran zinočnatý alebo naftalén-1,6-disulfonát, čím sa vytvoria stabilné soli. Tieto stabilizátory môžu na niektoré enzymatické systémy pôsobiť výrazne inhibične, zatiaľ čo diazóniumchloridy sú menej inhibičné.² Z tohto dôvodu spoločnosť Sigma-Aldrich v súčasnosti poskytuje na cytochémiu kyslej fosfatázy stabilný roztok bázy Fast Garnet GBC a dusitanu sodného. Na ďalšie zjednodušenie tejto metódy je zahrnutý aj stabilný vodný roztok naftol AS-BI fosfátu. Dostupnosť týchto stabilných roztokov umožňuje používateľom upravovať objemy pracovných reakcií podľa potreby, čím sa eliminuje plytvanie.

Podľa postupu spoločnosti Sigma-Aldrich sa krvné nátery inkubujú v roztoku obsahujúcom naftol AS-BI kyselinu fosforečnú a čerstvo diazotovanú reagentiu Fast Garnet GBC. Duplicitné nátery sa môžu ošetriť roztokom obsahujúcim L(+)-vínan. Naftol AS-BI uvoľnený enzymatickou hydrolyzou sa okamžite spája s reagentiou Fast Garnet GBC a vytvára v miestach aktivity nerozpustné usadeniny farbiva gaštanovej farby. Bunky obsahujúce kyselinu vínnu citlivú na kyslú fosfatázu nie sú aktívne. Mononukleárne bunky obsahujúce fosfatázu rezistentnú voči kyseline vínnej nie sú takýmto ošetrením ovplyvnené.

Reagencie

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

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

Roztok bázy Fast Garnet GBC (kat. č. 3872-10ML)

Báza Fast Garnet GBC, 7,0 mg/ml, C.I. 11160, v 0,4 mol/l kyseliny chlorovodíkovej so stabilizátorom. Nebezpečenstvo. Škodlivé po požití. Spôsobuje vážne poškodenie kože a poškodenie očí. Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. Môže spôsobiť rakovinu.

Roztok acetátu (kat. č. 3863-50ML)

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

Roztok vínanu (kat. č. 3873-10ML)

L(+)-vínanový pufer, 0,335 mol/l, pH 4,9 ± 0,1. Výstraha. Spôsobuje mierne podráždenie pokožky.

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

Dusitan sodný, 0,1 mol/l

Roztok citrátu (kat. č. 915-50ML)

Kyselina citrónová, 18 mmol/l, citran sodný, 9 mmol/l, chlorid sodný, 12 mmol/l, a povrchovo aktívna látka, pH 3,6 ± 0,1

Roztok hematoxylínu, Gill č. 3 (kat. č. GHS3-50ML)

Hematoxylin, certifikovaný, 6,0 g/l, C.I. 75290, jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hlinitý, 52,8 g/l a stabilizátory. Nebezpečenstvo. Škodlivé po požití. Spôsobuje vážne poškodenie očí. Noste ochranné rukavice/ochranné okuliare/ochranu tváre.

Potrebné špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia

- Acetón, reagentia ACS
- Formaldehyd, 37 %

Skladovanie a stabilita

Roztok hematoxylínu uchovávať pri izbovej teplote (18 – 26 °C). Chrániť pred svetlom. Na etikete reagentie je uvedený dátum expirácie.

Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečnej, roztok bázy Fast Garnet GBC, roztok acetátu, roztok vínanu, roztok dusitanu sodného a roztok citrátu uchovávať pri teplote 2 – 8 °C.

Fixačný roztok uchovávať v chladničke (2 – 8 °C). Pred použitím zahrejte na 18 – 26 °C. Stabilný až 2 mesiace, ak sa uchováva tesne uzavretý v chladničke. Ak zaznamenáte odparenie fixačného roztoku, zlikvidujte ho a pripravte čerstvý.

Zhoršenie kvality

Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečnej, roztok vínanu je potrebné zlikvidovať, ak sa objaví zákal.

Roztok citrátu je vhodný na použitie v prípade neprítomnosti mikrobiálneho rastu.

Roztok hematoxylínu je potrebné zlikvidovať, ak sa jeho farba zmení na hnedú (nadmerná oxidácia zo vzduchu) alebo fialovú (strata kyslosti).

Príprava

Reagencie sa dodávajú pripravené na použitie.

Pripravte fixačný roztok zmiešaním 25 ml roztoku citrátu, 65 ml acetónu a 8 ml 37 % formaldehydu. Umiestnite do sklenenej fľaše a tesne uzavrite.

Bezpečnostné opatrenia

Tieto pomôcky IVD sú určené na diagnostické použitie *in vitro* v prostredí klinického laboratória. Tieto IVD sú určené len na profesionálne použitie kvalifikovaným personálom. IVD Sigma-Aldrich môžu obsluhovať laboratórni pracovníci, ktorí sú vyškolení na manipuláciu s ľudskými vzorkami, ktoré môžu byť infekčné, používajú mikroskopy a iné laboratórne vybavenie a majú farebné vnímanie a zrakovú ostrosť na rozlišovanie farieb a iných objektov pod mikroskopom.

Musia sa dodržiavať bežné bezpečnostné opatrenia uplatňované pri manipulácii s laboratórnymi čidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinčnými alebo národnými predpismi.

Postup

Odber vzorky

Žiadna známa testovacia metóda nemôže poskytnúť úplnú záruku, že vzorky krvi alebo tkaniva neprenesú infekciu. Všetky deriváty krvi alebo vzorky tkaniva by sa preto mali považovať za potenciálne infekčné.

Môžu sa použiť nátery krvi a kostnej drene, tkanivové dotykové preparáty a cytocentrifúgové preparáty. Ako antikoagulanty slúžia buď EDTA, alebo heparín. Nátery krvi alebo kostnej drene sa môžu uchovávať fixované pri izbovej teplote (18 – 26 °C) niekoľko týždňov alebo nefixované niekoľko dní bez výraznej zmeny aktivity.³ Neposielajte plnú krv na analýzu do iných laboratórií. Posielajte fixované alebo nefixované sklička. Sklička je potrebné počas prepravy uchovávať v chlade. Pred fixáciou nechajte nátery schnúť najmenej 1 hodinu.

Poznámky

Účinnosť testu je potrebné monitorovať zahrnutím krvného náteru pripraveného zo zdravého jedinca.

Postup

1. Predhrejte dostatočné množstvo deionizovanej vody na jeden deň používania na teplotu 37 °C. Pred použitím skontrolujte teplotu.
2. Uvedte fixačný roztok na izbovú teplotu (18 – 26 °C). Fixujte sklička ponorením do fixačného roztoku na 30 sekúnd. Dôkladne opláchnite deionizovanou vodou: Nenechajte sklička vyschnúť.
3. Do každej z 2 skúmaviek pridajte 0,5 ml roztoku bázy Fast Garnet GBC a 0,5 ml roztoku dusitanu sodného. Premiešajte jemným prevracaním počas 30 sekúnd. Nechajte stáť 2 minúty.
4. Označte dve 100 ml kadičky A a B za súčasného miešania pridajte nasledujúce látky:

	Kadička A	Kadička B
Deionizovaná voda predhriata na teplotu 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
Roztok acetátu	2,0 ml	2,0 ml
Roztok vínanu	–	1,0 ml

5. Označte Coplinove nádoby A a B a roztoky z kadičiek preneste do príslušných Coplinových nádob. Roztoky v nádobách zohrejte na teplotu 37 °C vo vodnom kúpeli. Pred pridaním skličiek skontrolujte, či je teplota 37 °C.
6. Pridajte sklička do Coplinových nádob a inkubujte 1 hodinu vo vodnom kúpeli chránenom pred svetlom pri teplote 37 °C.
7. Po 1 hodine sklička dôkladne opláchnite v deionizovanej vode a potom 2 minúty kontrastne farbite v roztoku hematoxylínu, Gill č. 3.
8. Niekoľko minút oplachujte v alkalickvej vode z vodovodu, kým sa nezmrazia jadrá.
9. Vysušte na vzduchu a mikroskopicky zhodnoťte. Použitie krycích skličok sa neodporúča, pretože farbivo časom vybledne.

Vlastnosti výkonu

Výsledky

Sfarbené krvné nátery sa zvyčajne posudzujú subjektívne z hľadiska prítomnosti alebo absencie vínan-rezistentného enzýmu. Pri absencii kyseliny vínnej vykazuje väčšina leukocytov granulárne miesta aktivity. Pri inkubácii s vínanom je možné pozorovať príležitostné granule v lymfocytoch a niektorých špecializovaných makrofágoch.⁴ V krvných náteroch sa pozitívna reakcia označuje prítomnosťou viac ako dvoch buniek s difúznou a intenzívnou aktivitou, t. j. viac ako 40 granúl.⁴ Na hodnotenie Golgiho farbenia, charakteristického pre lymfocyty odvodené od týmusu (T-bunky), sa odporúča postup spoločnosti Sigma-Aldrich č. 181.

Aktivita kyslej fosfatázy sa v cytoplazme väčšiny leukocytov prejavuje ako purpurové až tmavočervené granule.

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadať o pomoc.

Vlastnosti analytického výkonu

Výsledky analytického výkonu pre dané testy vykonané na všetkých cieľových štruktúrach potvrdzujú 100 % citlivosť, špecifickosť a opakovateľnosť.

Kat. č.	Opis výrobku	Cieľ	Špecifickosť v rámci testu	Citlivosť v rámci testu	Špecifickosť medzi testami	Citlivosť medzi testami
3871	Roztok naftol AS-BI kyseliny fosforečnej	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3872	Roztok bázy Fast Garnet GBC	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3873	Roztok vínanu	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
3863	Roztok acetátu	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
914	Roztok dusitanu sodného	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
915	Roztok citrátu	Miesta aktivity	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
GHS3	Roztok hematoxylínu, Gill č. 3	Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3

Výstrahy a nebezpečenstvá

Všetky aktualizované informácie o riziku, nebezpečenstve alebo bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov a na etikete výrobku.

387A:



H290 Môže byť korozívne pre kovy.

H302 Škodlivý po požití.

H314 Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí.

H317 Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

H350 Môže spôsobiť rakovinu.

H373 Môže spôsobiť poškodenie orgánov (obličky) pri dlhšej alebo opakovanej expozícii, pri požití.

H402 Škodlivé pre vodné organizmy.

P201 Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.

P202 Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.

P234 Uchovávať iba v pôvodnom balení.

P260 Nevdychujte hmlu alebo pary.

P264 Po manipulácii starostlivo umyte pokožku.

P270 Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite.

P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.

P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare a ochranu tváre.

P301 + P 312 + P330 PO POŽITÍ: Pri zdravotných problémoch volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. Vypláchnite ústa.

P301 + P330 + P331 PO POŽITÍ: Vypláchnite ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracanie.

P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou/sprchou.

P304 + P340 + P310 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlné dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.

P305 + P351 + P338 + P310 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára.

P308 + P313 Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P333+ P313 Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P362 + P364 Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte.

P390 Absorbujte uniknutý produkt, aby sa zabránilo materiálnym škodám.

P405 Uchovávať uzamknuté.

P406 Uchovávať v nádobe odolnej proti korózii s odolnou vnútornou vrstvou.

P501 Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na zneškodňovanie odpadu.

Ak sa počas používania tejto pomôcky alebo v dôsledku jej používania vyskytne závažná nehoda, nahláste ju výrobcovi alebo jeho autorizovanému zástupcovi a štátnemu orgánu.

Definície symbolov

Symboly podľa vymedzenia v norme EN ISO 15223-1:2021

	Výrobca		Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie		Kód šarže
	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii		Vyhlásenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby		Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

- 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

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

História revízií

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Prenesené do novej šablóny s aktuálnou značkou. Špecifikované na profesionálne použitie pri určenom použití a bezpečnostných opatreniach. Revidované určené použitie, aby bolo v súlade s usmerneniami IVDR. Aktualizovanie karty bezpečnostných údajov materiálu na karte bezpečnostných údajov. Aktualizované kontaktné informácie. Odstránený pokyn na dodržiavanie CLSI pre odber vzoriek. Odstránená norma EN 980 a zmenená na normu EN ISO 15223-1:2021 pre symboly. Pridané kontaktné informácie pre nežiaduce udalosti. Odstránený odkaz číslo 5. Pridané upozornenia a nebezpečenstvá. Doplnené informácie o CH-REP.	
Rev. 6.0	2025
Aktualizované informácie v karte bezpečnostných údajov. Doplnené informácie o dovozcovi vo Švajčiarsku.	



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



Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Initial M a Sigma-Aldrich sú ochranné známky spoločnosti Merck KGaA, Darmstadt, Nemecko alebo jej dcérskych spoločností. Všetky ostatné ochranné známky sú majetkom ich príslušných vlastníkov. Podrobné informácie o ochranných známkach sú k dispozícii prostredníctvom verejne dostupných zdrojov.

© 2025 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.