Sigma-Aldrich®

Instructions for Use

Fetal Hemoglobin Kit

Procedure No. 285

IVD CE

MERCK

Intended Use

Fetal Hemoglobin reagents are intended for use as a general laboratory histochemical stain for the acid elution determination of fetal hemoglobin in blood smears. Fetal Hemoglobin stain reagents are for "In Vitro Diagnostic Use." For professional use only. This manual, semi-quantitative procedure detects fetal hemoglobin in erythrocytes of human blood smear specimens.

Advances in techniques for protein isolation and characterization led to the discovery that there are several distinguishing properties that make it possible to differentiate fetal from adult hemoglobin. Among these is the resistance of fetal hemoglobin (hemoglobin F) to acid elution. When blood smears are immersed in acid buffer, for example, adult hemoglobin is eluted from the erythrocytes, whereas fetal hemoglobin is not. If blood smears are treated in this manner and subsequently stained, erythrocytes having hemoglobin F will take up the stain, while those containing only adult hemoglobin appear as "ghosts".

The slide technique for demonstrating fetal hemoglobin in terms of its resistance to acid elution was originally proposed by Kleihauer et al.,[1] and later modified by Shepard et al.[2] The Sigma produced represents a further improvement in this approach as described by Oski and Naiman.[3]

It is becoming increasingly common in cases of Rh incompatibility to suppress immune reactions to red blood cells entering maternal circulation from the fetus. The amount of specific gamma globulin, containing anti Rh(D) to be administered, is calculated by assessing the magnitude of fetal-maternal hemorrhage.[4]

According to described technique, blood smears, which have been properly dried and fixed, are immersed in a citrate buffer pH 3.3 at 37 °C. Adult hemoglobin A (HbA) dissolves out of the cells, whereas fetal hemoglobin (HbF) which is acid resistant, remains intracellular and can be stained for microscopic examination.

Reagents

Citrate Phosphate Buffer Concentrate (Cat. No. 2851)
Sodium citrate, 0.7 mol/L, and sodium phosphate, 0.6 mol/L, chloroform added as preservative

Acid Hematoxylin Solution (Cat. No. 2852)
Hematoxylin, certified, 1 g/L, C.I. 75290, aluminum ammonium sulfate, sodium iodates and stabilizers, pH 3.3

Eosin B Solution (Cat. No. 2853)
Eosin B, 0.1%, aqueous solution, C.I. 45400. Sodium azide, 0.1%, added as preservative

Special Materials Required but Not Provided

- Microscope
- Microscopes slides, cover slips
- Staining rack/Coplin jars
- Water bath, 37 °C
- Ethanol Fixative (Cat. No. 2858) 80% v/v ethyl alcohol

Storage and Stability

Store Citrate Phosphate Buffer Concentrate in refrigerator (2-8 °C). Discard if there is evidence of microbial growth.

Store Citrate Phosphate Buffer Solution in refrigerator (2-8 °C). Stable for 2 weeks. Use a fresh aliquot each day. Discard if there is evidence of microbial growth.

Store Acid Hematoxylin Solution and Eosin B Solution at room temperature (18-26 °C). Solutions may be reused if they are stored in tightly sealed staining jars in subdued lights.

Ethanol Fixative should be stored at room temperature. Store tightly sealed and as a flammable liquid. Solution may be reused but should be discarded if fixation is not adequate.

Deterioration

Discard Acid Hematoxylin Solution when the time required for suitable staining exceeds 8 minutes.

Preparation

Citrate Phosphate Buffer Solution is prepared by diluting 1 volume of Citrate Phosphate Buffer Concentrate with 9 volumes of water.

Acid Hematoxylin Solution, Eosin B Solution and Ethanol Fixative are ready to use.

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

All samples must be clearly labeled. Suitable instruments must be used for obtaining and preparing samples. Follow manufacturer's instructions for use.

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.

Either capillary or venous blood may be used. Capillary blood may be transferred directly to a clean microscope slide. Venous blood should be added to a tube containing EDTA or oxalate. For convenience, use 1-2 drops of 2% EDTA Solution (Cat. No. 2854) per mL of blood (1 drop = 1 mg). Although blood-EDTA mixtures have been reported to be satisfactory for use up to 2 weeks when refrigerated.[2] Smears should be prepared within 24 hours from blood collected in oxalate.[5] Using samples from the newborn, it is recommended that the blood be diluted with 0.85% saline, since such specimens have a high content of HbF. Blood smears are not stable and must be tested immediately after preparation.

Notes

For quality control purposes, it is recommended that blood from a normal adult (HbA) and from a newborn or infant (HbF) be included in each series of tests. Barr and Shafer[6] report that fixed positive control slides from cord blood in EDTA can be preserved up to 1 year at −20 °C, in a sealed cardboard box. However, EDTA negative controls do not elute completely after being stores for more than 2 months at −20 °C. These investigators suggest preparing positive and negative smears on the same slide; thus, providing clear and rapid contrasts as reference in reading test slides.

Normal Ranges[7]

Age	Fetal Hemoglobin (%)
At Birth	50-90
< 2 years	0-4
> 2 years	0-2

Procedure

1. Citrate Phosphate Buffer Solution should be warmed to 37 °C in a Coplin jar or staining dish.
2. Using clean, labeled microscope slides, make thin blood smears. Prepare CONTROL slides using positive HbF blood (cord-blood) and normal adult blood. Air dry approximately 10 minutes.
3. Fix slides by immersing in Ethanol Fixative for 5 minutes, rinse thoroughly with tap water and air dry.
4. Immerse TEST and CONTROL slides in pre-warmed Citrate Phosphate Buffer Solution at 37 °C for 5 minutes. Agitate after 1 and 3 minutes of immersion. Degree of agitation may be varied to achieve most desirable results. Rinse thoroughly with distilled water and air dry **completely** to avoid staining artifacts.
5. Stain the slides for 3 minutes in Acid Hematoxylin Solution. Rinse slides thoroughly with distilled water and shake off excess water.
6. Counterstain slides for 4 minutes in 0.1% Eosin B Solution. Rinse thoroughly with distilled water and air dry.
7. Place **dry** coverslip on slide and examine using oil immersion (1000X). The absence of HbF is evident by the presence of ghost cells while retained HbF causes cells to appear bright red. Do **not** apply oil directly to slide. (**Note**: The 400X magnification may be used, but the resulting larger field may be more difficult to count.)

Performance Characteristics

The proportion of erythrocytes containing fetal hemoglobin may be estimated several ways. When studying maternal blood evidence of HbF-containing cells, Oski and Naiman[3] recommended the following:

1. Count total number of erythrocytes in 5 fields and determine the average number per field.
2. Count the number of deeply stained HbF-containing erythrocytes in about 30 fields and determine the average number per field.
3. Calculate percentage of HbF erythrocytes on the bases of the total number of erythrocytes per field.

Results are reported as the percent HbF present.

According to Oski and Naiman[3] this method is capable of detecting as little as 0.1 mL of fetal blood in maternal circulation.

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
2851	Citrate Phosphate Buffer Concentrate	Fetal Hemaglobin	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
2852	Acid Hematoxylin Solution	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
2853	Eosin B Solution	Fetal Hemaglobin	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.

285C, 285D:

H319 Causes serious eye irritation.

H350 May cause cancer.

P201 Obtain special instructions before use.

P264 Wash skin thoroughly after handling.

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P280 Wear eye protection/ face protection.

P305 + P351 + P338 IF IN EYES Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P308 + P313 IF exposed or concerned Get medical advice/attention.

P337 + P313 If eye irritation persists Get medical advice/attention.

P405 Store locked up.

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

References

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Contact Information

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

Revision History

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Updated literature references. Added a revision history table. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information.
Rev. 7.0	2025 Updatedd 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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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

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

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

Gebrauchsanweisung

Fetales Hämoglobin – Kit

Verfahren Nr. 285

IVD CE

Verwendungszweck

Die Reagenzien mit fetalem Hämoglobin sind als allgemeines histochemisches Färbemittel für den Laborgebrauch zur Bestimmung von fetalem Hämoglobin in Blutausstrichen mit saurer Elution bestimmt. Die Reagenzien zur Färbung von fetalem Hämoglobin sind für die „*In-vitro*-Diagnose" bestimmt. Nur für den professionellen Gebrauch. Dieses manuelle, semiquantitative Verfahren dient dem Nachweis von fetalem Hämoglobin in Erythrozyten von menschlichen Blutausstrichpräparaten.

Fortschritte bei den Techniken zur Isolierung und Charakterisierung von Proteinen führten zu der Entdeckung, dass es mehrere Unterscheidungsmerkmale gibt, die es ermöglichen, fötales von adultem Hämoglobin zu unterscheiden. Dazu gehört die Resistenz von fetalem Hämoglobin (Hämoglobin F) gegenüber saurer Elution. Werden Blutausstriche beispielsweise in einen saure Pufferlösung getaucht, löst sich das adulte Hämoglobin aus den Erythrozyten, das fetale Hämoglobin hingegen nicht. Wenn Blutausstriche auf diese Weise behandelt und anschließend gefärbt werden, nehmen die Erythrozyten mit Hämoglobin F die Färbung an. Erythrozyten, die nur erwachsenes Hämoglobin enthalten, präsentieren sich dagegen als „Geisterzellen".

Das Objektträgerverfahren zum Nachweis von fetalem Hämoglobin aufgrund seiner Resistenz gegenüber einer sauren Elution wurde ursprünglich von Kleihauer et al.[1] beschrieben und später von Shepard et al.[2] modifiziert. Das erzeugte Sigma stellt eine weitere Verbesserung dieses Ansatzes dar, wie von Oski und Naiman beschrieben.[3]

In Fällen einer Rhesus-Inkompatibilität kommt es immer häufiger zu einer Unterdrückung der Immunreaktionen auf die vom Fötus in den mütterlichen Blutkreislauf übergehenden roten Blutkörperchen. Die Menge des zu verabreichenden spezifischen Anti-Rh(D) enthaltenden Gammaglobulins wird unter Berücksichtigung des Ausmaßes der fetal-mütterlichen Blutung berechnet.[4]

Gemäß des beschriebenen Verfahrens werden ordnungsgemäß getrocknete und fixierte Blutausstriche in einen Citratpuffer mit einem pH-Wert von 3,3 bei 37 °C eingetaucht. Erwachsenes Hämoglobin A (HbA) löst sich aus den Zellen heraus, während das säureresistente fetale Hämoglobin (HbF) im Zellinneren verbleibt und für mikroskopische Untersuchungen angefärbt werden kann.

Reagenzien

Citrat-Phosphat-Puffer-Konzentrat (Kat.-Nr. 2851)
Natriumcitrat, 0,7 mol/l, und Natriumphosphat, 0,6 mol/l, mit Zusatz von Chloroform als Konservierungsmittel

Saure Hämatoxylin-Lösung (Kat.-Nr. 2852)
Hämatoxylin, zertifiziert, 1 g/l, C.I. 75290, Aluminiumammoniumsulfat, Natriumiodate und Stabilisatoren, pH 3,3

Eosin B-Lösung (Kat.-Nr. 2853)
Eosin B, 0,1 %, wässrige Lösung, C.I. 45400. Natriumazid, 0,1 %, zugesetzt als Konservierungsmittel

Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene spezielle Materialien

- Mikroskop
- Objektträger, Deckgläser
- Färbegestell/Coplin-Färbetröge
- Wasserbad, 37 °C
- Ethanol-Fixiermittel (Kat.-Nr. 2858) 80 % v/v Ethylalkohol

Lagerung und Stabilität

Das Citrat-Phosphat-Pufferkonzentrat im Kühlschrank aufbewahren (2–8 °C). Bei Anzeichen eines mikrobiellen Befalls entsorgen.

Die Citrat-Phosphat-Pufferlösung im Kühlschrank aufbewahren (2–8 °C). Stabil für 2 Wochen. Jeden Tag ein frisches Aliquot verwenden. Bei Anzeichen eines mikrobiellen Befalls entsorgen.

Die saure Hämatoxylin-Lösung und die Eosin B-Lösung bei Raumtemperatur lagern (18–26 °C). Die Lösungen können wiederverwendet werden, wenn sie in dicht verschlossenen Färbetrögen und nur schwachem Licht aufbewahrt werden.

Das Ethanol-Fixiermittel ist bei Raumtemperatur zu lagern. Dicht verschlossen und wie eine entzündliche Flüssigkeit lagern. Die Lösung kann wiederverwendet werden, sollte aber bei einer unzureichenden Fixierung entsorgt werden.

Zerfall

Die saure Hämatoxylin-Lösung muss entsorgt werden, wenn die für eine angemessene Färbung benötigte Zeit 8 Minuten übersteigt.

Vorbereitung

Die Citrat-Phosphat-Pufferlösung wird durch Verdünnen von 1 Volumen Citrat-Phosphat-Pufferkonzentrat mit 9 Volumen Wasser hergestellt.

Die saure Hämatoxylin-Lösung, die Eosin B-Lösung und das Ethanol-Fixiermittel sind gebrauchsfertig.

Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Verfahren

Probenentnahme

Alle Proben müssen eindeutig beschriftet sein. Zur Gewinnung und Aufbereitung der Proben sind geeignete Instrumente zu verwenden. Beachten Sie die Gebrauchsanweisung des Herstellers.

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 kann sowohl Kapillar- als auch venöses Blut verwendet werden. Kapillarblut kann direkt auf einen sauberen Objektträger aufgetragen werden. Venöses Blut zuvor sollte in ein mit EDTA oder Oxalat präpariertes Röhrchen gegeben werden. Zur Vereinfachung können 1–2 Tropfen 2%ige EDTA-Lösung (Kat.-Nr. 2854) pro ml Blut verwendet werden (1 Tropfen = 1 mg). Berichten zufolge können Blut-EDTA-Mischungen bis zu 2 Wochen lang verwendet werden, wenn sie gekühlt gelagert werden.[2] Abstriche sollten innerhalb von 24 Stunden von mit Oxalat entnommenem Blut hergestellt werden.[5] Bei Proben von Neugeborenen wird eine Verdünnung des Blutes mit 0,85%iger Kochsalzlösung empfohlen, da diese Proben einen hohen Gehalt an HbF aufweisen. Blutausstriche sind nicht stabil und müssen sofort nach der Herstellung untersucht werden.

Hinweise

Zur Qualitätskontrolle empfiehlt sich die gleichzeitige Verwendung von Blut eines gesunden Erwachsenen (HbA) und eines Neugeborenen oder Säuglings (HbF) in jeder Testreihe. Barr und Shafer[6] berichten, dass fixierte Positivkontroll-Objektträger aus Nabelschnurblut in EDTA bis zu 1 Jahr bei -20 °C in einem verschlossenen Behälter aus Karton aufbewahrt werden können. EDTA-Negativkontrollen eluieren jedoch nicht vollständig, nachdem sie länger als 2 Monate bei 20 °C gelagert wurden Diese Prüfärzte empfehlen, positive und negative Ausstriche auf demselben Objektträger zu präparieren, um so beim Ablesen der Testobjektträger einen deutlichen und schnellen Vergleich zu ermöglichen.

Normalbereiche[7]

Alter	Fetales Hämoglobin (%)
Bei Geburt	50-90
< 2 Jahre	0–4
> 2 Jahre	0–2

Verfahren

1. Die Citrat-Phosphat-Pufferlösung sollte in einem Coplin-Färbetrog oder einer Färbeschale auf 37 °C erwärmt werden.
2. Mit sauberen, beschrifteten Objektträgern dünne Blutausstriche anfertigen. KONTROLL-Objektträger mit positivem HbF-Blut (Nabelschnurblut) und normalem Erwachsenenblut anfertigen. Etwa 10 Minuten an der Luft trocknen lassen.
3. Objektträger 5 Minuten lang in Ethanol-Fixiermittel fixieren, gründlich mit Leitungswasser abspülen und an der Luft trocknen.
4. TEST- und KONTROLL-Objektträger 5 Minuten lang in die auf 37 °C vorgewärmte Citrat-Phosphat-Pufferlösung eintauchen. Nach 1 und 3 Minuten Tauchzeit bewegen. Das Ausmaß der Bewegung kann variiert werden, um die gewünschten Ergebnisse zu erzielen. Mit destilliertem Wasser gründlich abspülen und an der Luft **vollständig** trocknen lassen, um eine Färbung von Artefakten zu vermeiden.
5. Die Objektträger 3 Minuten lang in saurer Hämatoxylin-Lösung einfärben. Die Objektträger gründlich mit destilliertem Wasser abspülen und das überschüssige Wasser abschütteln.
6. Die Objektträger 4 Minuten lang in 0,1%iger Eosin B-Lösung gegenfärben. Gründlich mit destilliertem Wasser abspülen und an der Luft trocknen lassen.
7. Ein **trockenes** Deckglas auf den Objektträger legen und mit einer Ölimmersion (1000-fache Vergrößerung) untersuchen. Das Fehlen von HbF zeigt sich durch das Vorhandensein von Geisterzellen. Bei erhaltenem HbF erscheinen die Zellen hellrot. Das Öl **nicht** direkt auf den Objektträger auftragen. (**Hinweis**: Es kann auch eine 400-fache Vergrößerung verwendet werden, allerdings ist das daraus resultierende größere Feld unter Umständen schwieriger zu zählen).

Leistungsmerkmale

Der Anteil der fetales Hämoglobin enthaltenden Erythrozyten kann auf verschiedene Weise geschätzt werden. Bei der Untersuchung von mütterlichem Blut, in dem HbF-haltige Zellen nachgewiesen wurden, schlugen Oski und Naiman[3] Folgendes vor:

1. Die Gesamtzahl der Erythrozyten in 5 Feldern zählen und die durchschnittliche Anzahl pro Feld bestimmen.
2. Die Anzahl der intensiv gefärbten HbF-haltigen Erythrozyten in etwa 30 Feldern zählen und die durchschnittliche Anzahl pro Feld bestimmen.
3. Den Prozentsatz der HbF-Erythrozyten auf der Grundlage der Gesamtzahl der Erythrozyten pro Feld berechnen.

Die Ergebnisse werden als Prozentsatz des vorhandenen HbF angegeben.

Laut Oski und Naiman[3] kann mit dieser Methode bereits eine Menge von 0,1 ml fetalen Blutes im mütterlichen Kreislauf nachgewiesen werden.

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
2851	Citrat-Phosphat-Puffer-Konzentrat	Fetales Hämoglobin	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
2852	Saure Hämatoxylin-Lösung	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
2853	Eosin B-Lösung	Fetales Hämoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Verursacht schwere Augenreizungen.

H350 Kann Krebs erzeugen.

P201 Informieren Sie sich über besondere Hinweise zur Verwendung.

P202 Nicht handhaben, bevor Sie nicht alle Sicherheitshinweise gelesen und verstanden haben.

P264 Nach der Handhabung die Haut gründlich waschen.

P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.

P280 Tragen Sie einen Augenschutz/Gesichtsschutz.

P305 + P351 + P338 BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Kontaktlinsen entfernen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter spülen.

P308 + P313 BEI Exposition oder Bedenken Arztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P337 + P313 Bei anhaltender Augenreizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

P405 Unter Verschluss 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	REF	Katalognummer
	Anweisungen für den Gebrauch beachten	LOT	Chargencode
EC REP	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/ Europäischen Union	CE	Konformitätserklärung der Europäischen Union (definiert in IVDR 2017/746)
	Verfallsdatum	IVD	*In-vitro*-Diagnostikum
	Temperatur-Grenzwert		Vorsicht
	Datum der Herstellung		Importeur
CH REP	Bezeichnet den Bevollmächtigten in der Schweiz.		

Referenzen

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktinformationen

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

Revisionshistorie

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	2023 Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Die Referenzen wurden aktualisiert. Eine Tabelle zur Revisionshistorie wurde hinzugefügt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. Die Informationen des Bevollmächtigten in der Schweiz wurden hinzugefügt.
Rev. 7.0	2025 Aktualisierung der SDS-Informationen. 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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Sigma-Aldrich®

Instructions d'utilisation

Kit d'hémoglobine fœtale

Procédure n° 285

MERCK

IVD CE

Utilisation prévue

Les réactifs pour l'hémoglobine fœtale sont destinés à être utilisés comme colorant histochimique de laboratoire général pour la détermination par élution acide de l'hémoglobine fœtale dans les frottis sanguins. Les réactifs pour la coloration de l'hémoglobine fœtale sont destinés à un "usage en diagnostic *in vitro*". Réservé à un usage professionnel. Cette procédure semi-quantitative manuelle permet de détecter l'hémoglobine fœtale dans les érythrocytes des échantillons de frottis sanguins humains.

Les progrès réalisés en matière de techniques d'isolement et de caractérisation des protéines ont conduit à la mise en évidence de plusieurs propriétés caractéristiques permettant de différencier l'hémoglobine fœtale de l'hémoglobine adulte. Parmi celles-ci figure la résistance de l'hémoglobine fœtale (hémoglobine F) à l'élution acide. Par exemple, lorsque des frottis sanguins sont immergés dans un tampon acide, l'hémoglobine adulte est éluée des érythrocytes, alors que l'hémoglobine fœtale ne l'est pas. Si les frottis sanguins sont traités de cette manière et ensuite colorés, les érythrocytes contenant de l'hémoglobine fœtale vont se colorer, tandis que ceux qui ne contiennent que de l'hémoglobine adulte apparaissent comme des "fantômes".

La technique sur lames pour mettre en évidence l'hémoglobine fœtale en termes de sa résistance à l'élution acide a été proposée à l'origine par Kleihauer et al.[1], puis elle a plus tard été modifiée par Shepard et al.[2]. Le produit de Sigma constitue une nouvelle amélioration de cette approche comme décrit par Oski et Naiman[3].

En cas d'incompatibilité rhésus, il est de plus en plus fréquent de supprimer les réactions immunitaires du fœtus contre les globules rouges qui entrent dans la circulation maternelle. La quantité de gammaglobulines spécifiques, contenant l'anti-Rh(D) à administrer, est calculée en évaluant l'importance de l'hémorragie fœto-maternelle[4].

Selon la technique décrite, les frottis sanguins, qui ont été correctement séchés et fixés, sont immergés dans un tampon citrate de pH 3,3 à 37 °C. L'hémoglobine A adulte (HbA) est éluée hors des cellules, tandis que l'hémoglobine fœtale (HbF), qui est acido-résistante, reste dans les cellules et peut être colorée en vue d'être examinée au microscope.

Réactifs

Tampon citrate-phosphate concentré (réf. 2851)

Citrate de sodium, 0,7 mol/l, et phosphate de sodium, 0,6 mol/l, chloroforme ajouté comme conservateur

Solution d'hématoxyline acide (réf. 2852)
Hématoxyline, certifiée, 1 g/l, C.I. 75290, sulfate d'aluminium et d'ammonium, iodates de sodium et stabilisateurs, pH 3,3

Solution d'éosine B (réf. 2853)

Éosine B, 0,1 %, solution aqueuse, C.I. 45400. Azoture de sodium, 0,1 %, ajouté comme conservateur

Matériel spécial requis mais non fourni

- Microscope
- Lames de microscope, lamelles couvre-objet
- Portoir de coloration/cuves à coloration de Coplin
- Bain-marie, 37 °C
- Fixateur à base d'éthanol (réf. 2858), alcool éthylique à 80 % v/v

Conservation et stabilité

Conserver le tampon citrate-phosphate concentré au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Jeter si une croissance microbienne est observée.

Conserver la solution de tampon citrate-phosphate au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Stable pendant 2 semaines. Utiliser une nouvelle aliquote tous les jours. Jeter si une croissance microbienne est observée.

Conserver la solution d'hématoxyline acide et la solution d'éosine B à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Les solutions peuvent être réutilisées si elles sont conservées dans des cuves à coloration hermétiquement fermées, à l'abri de la lumière.

Le fixateur à base d'éthanol doit être conservé à température ambiante. Le conserver fermé hermétiquement et comme s'il s'agissait d'un liquide inflammable. La solution peut être réutilisée, mais elle doit être jetée si la fixation n'est pas adéquate.

Détérioration

Jeter la solution d'hématoxyline acide lorsque le temps nécessaire pour obtenir une coloration adéquate dépasse 8 minutes.

Préparation

La solution de tampon citrate-phosphate est préparée en diluant 1 volume de tampon citrate-phosphate concentré avec 9 volumes d'eau.

La solution d'hématoxyline acide, la solution d'éosine B et le fixateur à base d'éthanol sont prêts à l'emploi.

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

Tous les échantillons doivent être clairement étiquetés. Des instruments appropriés doivent être utilisés pour obtenir et préparer les échantillons. Suivre les instructions d'utilisation des fabricants.

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

Il est possible d'utiliser du sang capillaire ou veineux. Le sang capillaire peut être transféré directement sur une lame de microscope propre. Le sang veineux doit être ajouté à un tube contenant de l'EDTA ou de l'oxalate. Pour plus de commodité, utiliser 1 à 2 gouttes de solution d'EDTA à 2 % (réf. 2854) par ml de sang (1 goutte = 1 mg). Bien que l'utilisation des mélanges sang-EDTA se soit révélée satisfaisante jusqu'à 2 semaines lorsque ces mélanges sont réfrigérés[2], les frottis doivent être préparés dans les 24 heures suivant le prélèvement de sang dans de l'oxalate[5]. Avec les échantillons provenant de nouveau-nés, il est recommandé de diluer le sang avec une solution saline à 0,85 %, car ces échantillons contiennent une concentration élevée en HbF. Les frottis sanguins ne sont pas stables et doivent être testés immédiatement après leur préparation.

Remarques

À des fins de contrôle qualité, il est recommandé d'inclure dans chaque série de tests le sang d'un adulte en bonne santé (HbA) ainsi que celui d'un nouveau-né ou d'un nourrisson (HbF). Barr et Shafer[6] rapportent que les lames de contrôles positifs fixées provenant de sang de cordon prélevé dans de l'EDTA peuvent être conservées jusqu'à 1 an à -20 °C, dans une boîte en carton hermétique. Toutefois, les contrôles négatifs à l'EDTA ne sont pas complètement élués après avoir été stockés pendant plus de 2 mois à -20 °C. Ces chercheurs suggèrent de préparer des frottis positifs et négatifs sur la même lame, ce qui permet d'obtenir des contrastes clairs et rapides comme référence pour la lecture des lames à tester.

Plages normales[7]

Âge	Hémoglobine fœtale (%)
À la naissance	50-90
< 2 ans	0-4
> 2 ans	0-2

Procédure

1. La solution de tampon citrate-phosphate doit être chauffée à 37 °C dans une cuve à coloration de Coplin ou une cuve à coloration standard.
2. En utilisant des lames de microscope propres et étiquetées, réaliser des frottis sanguins fins. Préparer des lames de CONTRÔLE avec du sang contenant de l'HbF (sang de cordon) et du sang provenant d'un adulte en bonne santé. Laisser sécher à l'air libre pendant 10 minutes environ.
3. Fixer les lames en les immergeant dans le fixateur à base d'éthanol pendant 5 minutes, les rincer soigneusement sous l'eau de ville puis les laisser sécher à l'air libre.
4. Immerger les lames À TESTER et les lames de CONTRÔLE dans une solution de tampon citrate-phosphate préchauffée à 37 °C pendant 5 minutes. Agiter après 1 et 3 minutes d'immersion. L'intensité de l'agitation peut varier en fonction des résultats souhaités. Rincer soigneusement à l'eau distillée et laisser sécher **complètement** à l'air libre pour éviter les artefacts de coloration.
5. Colorer les lames dans la solution d'hématoxyline acide pendant 3 minutes. Rincer soigneusement les lames à l'eau distillée et les secouer pour éliminer l'excès d'eau.
6. Contre-colorer les lames pendant 4 minutes dans la solution d'éosine B à 0,1 %. Rincer soigneusement à l'eau distillée et laisser sécher à l'air libre.
7. Placer une lamelle couvre-objet **sèche** sur chaque lame, puis examiner les lames au microscope avec un objectif à immersion (1000x). L'absence d'HbF est mise en évidence par la présence de cellules fantômes, tandis que l'HbF retenue fait apparaître les cellules en rouge vif. **Ne pas** appliquer l'huile à immersion directement sur la lame. (**Remarque** : le grossissement 400x peut être utilisé, mais le champ plus large qui en résulte peut rendre le comptage plus difficile.)

Caractéristiques de performance

La proportion d'érythrocytes contenant de l'hémoglobine fœtale peut être estimée de plusieurs façons. Lorsqu'ils ont étudié la mise en évidence des cellules contenant de l'HbF dans le sang maternel, les recommandations d'Oski et Naiman[3] étaient les suivantes :

1. compter le nombre total d'érythrocytes dans 5 champs, puis déterminer leur nombre moyen par champ.
2. compter le nombre d'érythrocytes contenant de l'HbF fortement colorés dans environ 30 champs, puis déterminer leur nombre moyen par champ.
3. calculer le pourcentage d'érythrocytes contenant de l'HbF d'après le nombre total d'érythrocytes par champ.

Les résultats sont rapportés en pourcentage d'HbF présente.

Selon Oski et Naiman[3], cette méthode est capable de détecter au minimum 0,1 ml de sang fœtal dans la circulation sanguine maternelle.

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
2851	Tampon citrate-phosphate concentré	Hémoglobine fœtale	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
2852	Solution d'hématoxyline acide	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
2853	Solution d'éosine B	Hémoglobine fœtale	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.

285C, 285D :

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H350 Peut provoquer le cancer.

P201 Se procurer les instructions avant utilisation.

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

P264 Se laver la peau soigneusement après manipulation.

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

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

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

P308 + P313 EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.

P337 + P313 Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.

P405 Garder sous clé.

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	REF	Référence
	Consulter le mode d'emploi	LOT	Numéro du lot
EC REP	Représentant agréé dans la Communauté européenne/l'Union européenne	CE	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	IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
CH REP	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com. Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse SigmaAldrich.com/techservice.

Historique des révisions

Rév. 4.0	2014
Rév. 5.0	2016
Rév. 6.0	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. Mise à jour des références bibliographiques. Ajout d'un tableau d'historique des révisions. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Ajout des informations sur le mandataire suisse (CH-REP).
Rév. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Rev. 7.0, 91748-LS, 2025

Sigma-Aldrich®

Istruzioni per l'uso

Kit emoglobina fetale

Procedura n. 285

MERCK

IVD CE

Uso previsto

I reagenti per l'emoglobina fetale sono destinati all'uso come colorante istochimico generale di laboratorio per la determinazione dell'eluizione acida dell'emoglobina fetale negli strisci ematici. I reagenti per la colorazione dell'emoglobina fetale sono destinati all'"uso diagnostico *in vitro*". Solo per uso professionale. Questa procedura semiquantitativa manuale rileva l'emoglobina fetale negli eritrociti contenuti in strisci di sangue umano.

I progressi nelle tecniche per l'isolamento e la caratterizzazione delle proteine hanno consentito di appurare che esistono diverse proprietà distintive che favoriscono la differenziazione tra emoglobina fetale e adulta. Una di queste è la resistenza dell'emoglobina fetale (emoglobina F) all'eluizione acida. Ad esempio, quando uno striscio ematico viene immerso in un tampone acido, l'emoglobina adulta subisce l'eluizione, mentre l'emoglobina fetale rimane intatta. Se gli strisci ematici vengono trattati in questo modo e successivamente colorati, gli eritrociti fetali assorbiranno il colorante, mentre quelli adulti appariranno come "fantasmi".

La tecnica di colorazione dei vetrini per dimostrare l'emoglobina fetale in termini di resistenza all'eluizione acida è stata originariamente proposta da Kleihauer et al.,[1] e successivamente modificata da Shepard et al.[2] Il prodotto di Sigma rappresenta un'ulteriore evoluzione di quest'approccio descritto da Oski e Naiman.[3]

Nei casi di incompatibilità Rh si diffonde sempre di più la tendenza a sopprimere le reazioni immunitarie ai globuli rossi che entrano nella circolazione materna dal feto. La quantità di gammaglobuline specifiche contenenti anti Rh(D) da somministrare si calcola valutando l'entità dell'emorragia materno-fetale.[4]

Secondo la tecnica descritta, gli strisci ematici, opportunamente essiccati e fissati, vengono immersi in un tampone citrato pH 3,3 a 37 °C. L'emoglobina A adulta (HbA) viene eliminata dalle cellule, mentre l'emoglobina fetale (HbF), resistente agli acidi, rimane in sede intracellulare e può essere colorata per l'esame microscopico.

Reagenti

Concentrato tampone fosfato di citrato (N. di cat. 2851)
Citrato di sodio 0,7 mol/L e fosfato di sodio 0,6 mol/L, aggiunta di cloroformio come conservante

Soluzione di ematossilina acida (N. di cat. 2852)
Ematossilina certificata 1 g/L C.I. 75290, solfato di alluminio e ammonio, iodati di sodio e stabilizzanti, pH 3,3

Soluzione di eosina B (N. di cat. 2853)
Eosina B 0,1%, soluzione acquosa, C.I. 45400. Azoturo di sodio 0,1%, aggiunto come conservante

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Microscopio
- Vetrini per microscopio, coprioggetti
- Rack per colorazione/vaschette tipo Coplin
- Bagnomaria, 37 °C
- Soluzione fissativa di etanolo (N. di cat. 2858) 80% v/v alcol etilico

Conservazione e stabilità

Conservare il concentrato tampone fosfato di citrato in frigorifero (2-8 °C). Scartare se la crescita microbica è evidente.

Conservare la soluzione tampone fosfato di citrato in frigorifero (2-8 °C). Stabile per 2 settimane. Utilizzare un'aliquota fresca ogni giorno. Scartare se la crescita microbica è evidente.

Conservare la soluzione di ematossilina acida e la soluzione di eosina B a temperatura ambiente (18-26 °C). Le soluzioni possono essere riutilizzate se conservate in vaschette per colorazione sigillate a chiusura ermetica in condizioni di luce soffusa.

Conservare la soluzione fissativa di etanolo a temperatura ambiente. Conservare ben sigillata e come liquido infiammabile. La soluzione può essere riutilizzata, ma deve essere scartata se la fissazione non è adeguata.

Deterioramento

Scartare la soluzione di ematossilina acida quando il tempo necessario per una colorazione adeguata è superiore a 8 minuti.

Preparazione

Per preparare la soluzione tampone fosfato di citrato diluire 1 volume di concentrato tampone fosfato di citrato con 9 volumi di acqua.

La soluzione di ematossilina acida, la soluzione di eosina B e la soluzione fissativa di etanolo sono pronti per l'uso.

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

Etichettare tutti i campioni in modo chiaro. Per raccogliere e preparare i campioni si devono utilizzare strumenti adeguati. Seguire le istruzioni per l'uso del fabbricante.

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 sangue capillare o venoso. Il sangue capillare può essere trasferito direttamente su un vetrino per microscopio pulito. Versare il sangue venoso in una provetta con EDTA o ossalato. Per praticità, utilizzare 1-2 gocce di soluzione EDTA al 2% (n. cat. 2854) per ml di sangue (1 goccia = 1 mg). Sebbene sia stato segnalato che le miscele sangue-EDTA sono soddisfacenti per l'uso fino a 2 settimane se refrigerate,[2] gli strisci devono essere preparati entro 24 ore dal prelievo di sangue in ossalato.[5] Se si utilizzano campioni prelevati da neonati, si raccomanda di diluire il sangue con soluzione salina allo 0,85%, in quanto tali campioni presentano un alto contenuto di HbF. Gli strisci ematici non sono stabili e devono essere analizzati subito dopo la preparazione.

Note

Ai fini del controllo di qualità, includere in ogni serie di test campioni di sangue prelevati da un adulto normale (HbA) e da un neonato o lattante (HbF). Secondo Barr e Shafer[6], i vetrini di controllo positivi, fissati, preparati con sangue da cordone ombelicale in EDTA possono essere conservati fino a 1 anno a -20 °C in una scatola di cartone sigillata. Tuttavia, i controlli negativi EDTA non vengono eluiti completamente dopo essere stati conservati per oltre 2 mesi a -20 °C. Questi ricercatori suggeriscono di preparare strisci positivi e negativi sullo stesso vetrino; in tal modo, si ottengono contrasti chiari e rapidi come riferimento nella lettura dei vetrini in esame.

Intervalli nei limiti della norma[7]

Età	Emoglobina fetale (%)
Alla nascita	50-90
< 2 anni	0-4
> 2 anni	0-2

Procedura

1. Scaldare la soluzione tampone fosfato di citrato a 37 °C in una vaschetta tipo Coplin o in una vaschetta per colorazione.
2. Con l'ausilio di vetrini per microscopio puliti ed etichettati, eseguire sottili strisci di sangue. Preparare i vetrini di CONTROLLO utilizzando sangue HbF-positivo (sangue da cordone ombelicale) e sangue da adulto normale. Lasciar asciugare all'aria per circa 10 minuti.
3. Fissare i vetrini immergendoli in soluzione fissativa di etanolo per 5 minuti, sciacquarli abbondantemente con acqua corrente e asciugare all'aria.
4. Immergere i vetrini di TEST e CONTROLLO in nella soluzione tampone fosfato di citrato preriscaldata a 37 °C per 5 minuti. Agitare dopo 1 e 3 minuti di immersione. Il grado dell'agitazione può essere variato per ottenere i risultati più desiderabili. Sciacquare abbondantemente con acqua distillata e asciugare all'aria **completamente** per evitare artefatti di colorazione.
5. Colorare i vetrini per 3 minuti in soluzione di ematossilina acida. Sciacquare accuratamente i vetrini con acqua distillata e scrollare l'acqua in eccesso.
6. Controcolorare i vetrini per 4 minuti con una soluzione di eosina B allo 0,1%. Sciacquare abbondantemente con acqua distillata e asciugare all'aria.
7. Posizionare un coprioggetto **asciutto** sul vetrino ed esaminarlo usando una lente speciale per immersione in olio (1000X). L'assenza di HbF è evidenziata dalla presenza di cellule fantasma mentre l'HbF trattenuta dona alle cellule un colore rosso vivo. **Non** applicare l'olio direttamente sul vetrino (**nota**: è possibile utilizzare l'ingrandimento 400X, ma il campo più ampio che si ottiene potrebbe essere più difficile da contare).

Caratteristiche prestazionali

La proporzione di eritrociti contenenti emoglobina fetale può essere stimata in vari modi. Con riferimento alla ricerca nel sangue materno di cellule contenenti HbF, Oski e Naiman[3] hanno raccomandato quanto segue:

1. Contare il numero totale di eritrociti in 5 campi e calcolare la media per campo.
2. Contare il numero di eritrociti contenenti HbF a colorazione intensiva in circa 30 campi e determinare il numero medio per campo.
3. Calcolare la percentuale di eritrociti contenenti HbF rispetto al numero totale di eritrociti per campo.

I risultati sono riportati come percentuale di HbF presente.

Secondo Oski e Naiman[3] questo metodo è in grado di rilevare fino a 0,1 ml di sangue fetale nella circolazione della madre.

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
2851	Concentrato tampone fosfato di citrato	Emoglobina fetale	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
2852	Soluzione di ematossilina acida	Nuclei	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
2853	Soluzione di eosina B	Emoglobina fetale	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.

285C, 285D:

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H350 Può provocare il cancro.

P201 Procurarsi le istruzioni prima dell'uso.

P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza.

P264 Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso.

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

P280 Proteggere gli occhi/il viso.

P305 + P351 + P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P308 + P313 IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.

P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.

P405 Conservare sotto chiave.

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	REF	Numero di catalogo
	Consultare le istruzioni per l'uso	LOT	Codice del lotto
EC REP	Rappresentante autorizzato nella Comunità europea/Unione europea	CE	Dichiarazione di conformità dell'Unione europea (definita in IVDR 2017/746)
	Data di scadenza	IVD	Dispositivo medico diagnostico *in vitro*
	Limite di temperatura		Attenzione
	Data di fabbricazione		Importatore
CH REP	Indica il rappresentante autorizzato in Svizzera		

Bibliografia

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

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. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Aggiornata la bibliografia. Aggiunta la cronologia delle revisioni. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta di informazioni su CH-REP.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Instrucciones de uso

Kit de hemoglobina fetal

Procedimiento n.º 285

IVD CE

Uso previsto

Los reactivos de hemoglobina fetal están destinados al uso como tinción histoquímica general de laboratorio para la detección por elución ácida de la hemoglobina fetal en extensiones de sangre. Los reactivos de tinción de hemoglobina fetal son para «uso diagnóstico *in vitro*». Solo para uso profesional. Este procedimiento manual y semicuantitativo detecta la hemoglobina fetal en los eritrocitos de las muestras de extensiones de sangre humana.

Los avances en las técnicas de aislamiento y caracterización de proteínas permitieron descubrir que existen varias propiedades distintivas que permiten diferenciar la hemoglobina fetal de la adulta. Entre ellas, se encuentra la resistencia de la hemoglobina fetal (hemoglobina F) a la elución ácida. Cuando las extensiones de sangre se sumergen en amortiguador ácido, por ejemplo, la hemoglobina adulta se eluye de los eritrocitos, mientras que la hemoglobina fetal no lo hace. Si las extensiones de sangre se tratan de esta manera y se tiñen posteriormente, los eritrocitos que tienen hemoglobina F tomarán la tinción, mientras que los que solo contienen hemoglobina adulta aparecen como «fantasmas».

La técnica de portaobjetos para demostrar la hemoglobina fetal en términos de su resistencia a la elución ácida fue propuesta originalmente por Kleihauer y cols.,[1] y posteriormente modificada por Shepard y cols.[2] El sigma producido representa una mejora de este enfoque descrito por Oski y Naiman.[3]

Cada vez es más frecuente en los casos de incompatibilidad Rh suprimir las reacciones inmunitarias a los glóbulos rojos que entran en la circulación materna procedentes del feto. La cantidad de gammaglobulina específica, que contiene anti Rh(D) que debe administrarse, se calcula evaluando la magnitud de la hemorragia materno-fetal.[4]

Según la técnica descrita, las extensiones de sangre, que se han secado y fijado correctamente, se sumergen en una solución amortiguadora de citrato de pH 3,3 a 37 °C. La hemoglobina A adulta (HbA) se disuelve fuera de las células, mientras que la hemoglobina fetal (HbF), que es resistente a los ácidos, permanece en el espacio intracelular y puede teñirse para el examen microscópico.

Reactivos

Concentrado de solución amortiguadora con fosfato y citrato (n.º de cat. 2851)
Citrato de sodio, 0,7 mol/l, y fosfato de sodio, 0,6 mol/l, cloroformo añadido como conservante

Solución de hematoxilina ácida (n.º de cat. 2852)
Hematoxilina, certificada, 1 g/l, C.I. 75290, sulfato amónico de aluminio, yodatos sódicos y estabilizadores, pH 3,3

Solución de eosina B (n.º de cat. 2853)
Eosina B, 0,1 %, solución acuosa, C.I. 45400. Azida sódica al 0,1 %, añadida como conservante

Material especial necesario pero no suministrado

- Microscopio
- Portaobjetos para microscopio, cubreobjetos
- Gradilla de tinción/frascos Coplin
- Baño de agua a 37 °C
- Fijador de etanol (n.º de cat. 2858) al 80 % v/v de alcohol etílico

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar el concentrado de amortiguador de fosfato y citrato en el frigorífico (2-8 °C). Descartar si hay evidencias de crecimiento microbiano.

Almacenar la solución amortiguadora de fosfato y citrato en el frigorífico (2-8 °C). Estable durante 2 semanas. Utilizar una alícuota nueva cada día. Descartar si hay evidencias de crecimiento microbiano.

Conservar la solución de hematoxilina ácida y la solución de eosina B a temperatura ambiente (18-26 °C). Las soluciones pueden reutilizarse si se guardan en frascos de tinción bien cerrados y con luz tenue.

El fijador de etanol debe conservarse a temperatura ambiente. Almacenar bien cerrado y como líquido inflamable. La solución puede reutilizarse, pero debe desecharse si la fijación no es adecuada.

Deterioro

Desechar la solución de hematoxilina ácida cuando el tiempo necesario para una tinción adecuada sea superior a 8 minutos.

Preparación

La solución amortiguadora de fosfato y citrato se prepara diluyendo 1 volumen de concentrado de solución amortiguadora de fosfato y citrato con 9 volúmenes de agua.

La solución de hematoxilina ácida, la solución de eosina B y el fijador de etanol están listos para su uso.

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

Todas las muestras deben estar claramente etiquetadas. Se deben utilizar instrumentos adecuados para la obtención y preparación de muestras. Seguir las instrucciones de uso del fabricante.

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 capilar o venosa. La sangre capilar puede transferirse directamente a un portaobjetos limpio. La sangre venosa debe añadirse a un tubo que contenga EDTA u oxalato. Para mayor comodidad, utilizar 1-2 gotas de solución de EDTA al 2 % (n.º de cat. 2854) por ml de sangre (1 gota = 1 mg). Aunque se ha informado de que las mezclas de sangre con EDTA son satisfactorias para su uso hasta 2 semanas cuando están refrigeradas.[2] Los frotis deben prepararse en un plazo de 24 horas a partir de la sangre recogida en oxalato.[5] Si se utilizan muestras de recién nacidos, se recomienda diluir la sangre con solución salina al 0,85 %, ya que estas muestras tienen un alto contenido de HbF. Las extensiones de sangre no son estables y se deben analizar inmediatamente después de su preparación.

Notas

A efectos de control de calidad, se recomienda incluir en cada serie de pruebas sangre de un adulto normal (HbA) y de un recién nacido o de un lactante (HbF). Barr y Shafer[6] informan de que los portaobjetos de control positivo fijados de la sangre del cordón umbilical en EDTA pueden conservarse hasta 1 año a -20 °C, en una caja de cartón sellada. Sin embargo, los controles negativos con EDTA no eluyen completamente después de haber sido almacenados durante más de 2 meses a -20 °C. Estos investigadores sugieren que se preparen extensiones positivas y negativas en el mismo portaobjetos; de este modo, se obtienen contrastes claros y rápidos como referencia en la lectura de los portaobjetos.

Intervalos normales[7]

Edad	Hemoglobina fetal (%)
Al nacer	50-90
<2 años	0-4
>2 años	0-2

Procedimiento

1. La solución amortiguadora de fosfato y citrato debe calentarse hasta 37 °C en un frasco Coplin o en una cubeta de tinción.
2. Con portaobjetos de microscopio limpios y etiquetados, hacer extensiones de sangre finas. Preparar portaobjetos de CONTROL utilizando sangre HbF positiva (sangre de cordón umbilical) y sangre normal de adulto. Secar al aire unos 10 minutos.
3. Fijar los portaobjetos sumergiéndolos en fijador de etanol durante 5 minutos, enjuagar bien con agua del grifo y secar al aire.
4. Sumergir los portaobjetos de PRUEBA y CONTROL en la solución amortiguadora de fosfato y citrato precalentada a 37 °C durante 5 minutos. Agitar tras 1 y 3 minutos de inmersión. El grado de agitación puede variar para conseguir los resultados más deseados. Aclarar bien con agua destilada y secar al aire **completamente** para evitar los artefactos de tinción.
5. Teñir los portaobjetos durante 3 minutos en solución de hematoxilina ácida. Aclarar los portaobjetos a fondo con agua destilada y sacudir el exceso de agua.
6. Tintar los portaobjetos durante 4 minutos en solución de eosina B al 0,1 %. Aclarar bien con agua destilada y secar al aire.
7. Colocar el cubreobjetos **seco** en el portaobjetos y examinarlo mediante inmersión en aceite (1000X). La ausencia de HbF es evidente por la presencia de células fantasma mientras que la HbF retenida hace que las células aparezcan de color rojo brillante. **No** aplicar aceite directamente a la preparación. (**Nota**: Se puede utilizar el aumento de 400X, pero el mayor campo resultante puede ser más difícil de contar).

Características de funcionamiento

La proporción de eritrocitos que contienen hemoglobina fetal puede estimarse de varias maneras. Al estudiar las pruebas de sangre materna de las células que contienen HbF, Oski y Naiman[3] recomendaron lo siguiente:

1. Contar el número total de eritrocitos en 5 campos y determinar el número en promedio por campo.
2. Contar el número de eritrocitos que contienen HbF profundamente teñidos en unos 30 campos y determinar el número en promedio por campo.
3. Calcular el porcentaje de eritrocitos HbF sobre la base del número total de eritrocitos por campo.

Los resultados se presentan como el porcentaje de HbF presente.

Según Oski y Naiman[3], este método es capaz de detectar una cantidad tan pequeña como 0,1 ml de sangre fetal en la circulación materna.

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
2851	Concentrado de solución amortiguadora con fosfato y citrato	Hemoglobina fetal	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2852	Solución de hematoxilina ácida	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2853	Solución de eosina B	Hemoglobina fetal	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.

285C, 285D:

H319 Provoca irritación ocular grave.

H350 Puede provocar cáncer.

P201 Procurarse las instrucciones antes del uso.

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

P264 Lavarse cuidadosamente la piel después de la manipulación.

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

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

P305 + P351 + P338 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.

P308+ P313 EN CASO DE exposición demostrada o supuesta: consultar a un médico.

P337 + P313 Si la irritación ocular persiste, consultar a un médico.

P405 Guardar bajo llave.

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	REF	Número de catálogo
	Consultar instrucciones de uso	LOT	Código de lote
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea	CE	Declaración UE de conformidad (definida en el Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*)
	Fecha de caducidad	IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
	Límite de temperatura		Precaución
	Fecha de fabricación		Importador
CH REP	Indica el representante autorizado en Suiza		

Referencias

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Información de contacto

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

Historial de revisiones

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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 han actualizado las referencias bibliográficas. Se ha añadido una tabla del historial de revisiones. Se han añadido advertencias y peligros. Se ha añadido la información del representante de Suiza.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Brugsanvisning

Fosterhæmoglobinsæt

Procedure nr. 285

IVD CE

Tilsigtet brug

Fosterhæmoglobinreagenser er beregnet til brug som en histokemisk farvning til almindelig laboratoriebrug med henblik på syreelueringsbestemmelse af fosterhæmoglobin i blodudstrygninger. Fosterhæmoglobin-farvningsreagenser er beregnet til "*in vitro*-diagnostisk brug". Kun til professionel brug. Denne manuelle, semikvantitative procedure detekterer fosterhæmoglobin i erytrocytter fra humane blodudstrygningsprøver.

Fremskridt inden for teknikker til proteinisolering og -karakterisering førte til opdagelsen af, at der er flere karakteristiske egenskaber, der gør det muligt at differentiere fosterhæmoglobin fra voksenhæmoglobin. Blandt disse er fosterhæmoglobins (hæmoglobin F) modstand over for syreeluering. Når blodudstrygninger for eksempel nedsænkes i syrebuffer, elueres voksenhæmoglobin fra erytrocytterne, hvorimod fosterhæmoglobin ikke elueres. Hvis blodudstrygninger behandles på denne måde og efterfølgende farves, vil erytrocytter med hæmoglobin F optage farvningen, mens dem, der kun indeholder voksenhæmoglobin, fremstår som "spøgelser".

Objektglasteknikken til påvisning af fosterhæmoglobin via dets modstandsdygtighed over for syreeluering blev oprindeligt foreslået af Kleihauer et al.[1] og senere modificeret af Shepard et al.[2] Teknikken fra Sigma repræsenterer en yderligere forbedring af denne tilgang som beskrevet af Oski og Naiman.[3]

Det bliver mere og mere almindeligt i tilfælde af Rh-inkompatibilitet at undertrykke immunreaktioner på røde blodlegemer, der kommer ind i moderens kredsløb fra fosteret. Mængden af specifikt gammaglobulin, der indeholder anti-Rh(D), som skal administreres, beregnes ved at vurdere graden af føtal-maternal blødning.[4]

I henhold til den beskrevne teknik nedsænkes blodudstrygninger, som er blevet tørret og fikseret korrekt, i en citratbuffer med pH 3,3 ved 37 °C. Voksenhæmoglobin A (HbA) opløses ud af cellerne, hvorimod fosterhæmoglobin (HbF), som er syrebestandigt, forbliver intracellulært og kan farves med henblik på mikroskopisk undersøgelse.

Reagenser

Citratfosfatbufferkoncentrat (kat.nr. 2851)
Natriumcitrat, 0,7 mol/l, og natriumfosfat, 0,6 mol/l, kloroform tilsat som konserveringsmiddel

Sur hæmatoxylinopløsning (kat.nr. 2852)
Hæmatoxylin, certificeret, 1 g/l, C.I. 75290, aluminiumammoniumsulfat, natriumiodater og stabilisatorer, pH 3,3

Eosin B-opløsning (kat.nr. 2853)
Eosin B, 0,1 %, vandig opløsning, C.I. 45400. Natriumazid, 0,1 %, tilsat som konserveringsmiddel

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Mikroskop
- Objektglas, dækglas
- Farvningsstativ/Coplin-skåle
- Vandbad, 37 °C
- Ethanolfiksativ (kat.nr. 2858) 80 % vol./vol. ethylalkohol

Opbevaring og stabilitet

Opbevar citratfosfatbufferkoncentrat i køleskab (2-8 °C). Skal bortskaffes, hvis der er tegn på mikrobiel vækst.

Opbevar citratfosfatbufferopløsning i køleskab (2-8 °C). Holdbar i 2 uger. Brug en frisk alikvot hver dag. Skal bortskaffes, hvis der er tegn på mikrobiel vækst.

Opbevar sur hæmatoxylinopløsning og eosin B-opløsning ved stuetemperatur (18-26 °C). Opløsningerne kan genbruges, hvis de opbevares i tæt lukkede farvningsglas ved dæmpet belysning.

Ethanolfiksativ skal opbevares ved stuetemperatur. Skal opbevares tæt tillukket og som brandfarlig væske. Opløsningen kan genbruges, men skal kasseres, hvis fikseringen ikke er tilstrækkelig.

Forringelse

Sur hæmatoxylinopløsning skal kasseres, når den nødvendige tid til passende farvning overstiger 8 minutter.

Klargøring

Citratfosfatbufferopløsning fremstilles ved at fortynde 1 del citratfosfatbufferkoncentrat med 9 dele vand.

Sur hæmatoxylinopløsning, eosin B-opløsning og ethanolfiksativ er klar til brug.

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. Bortskaf affald under overholdelse af alle lokale, regionale eller nationale regler.

Procedure

Prøveindsamling

Alle prøver skal være tydeligt mærket. Egnede instrumenter skal bruges til at indhente og klargøre prøver. Følg producentens brugsanvisning.

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 enten kapillært eller venøst blod. Kapillærblod kan overføres direkte til et rent objektglas. Venøst blod skal tilsættes i et rør med EDTA eller oxalat. Af praktiske hensyn kan der bruges 1-2 dråber 2 % EDTA-opløsning (kat.nr. 2854) pr. ml blod (1 dråbe = 1 mg). Selvom blod-EDTA-blandinger er blevet rapporteret at være tilfredsstillende til brug i op til 2 uger ved opbevaring i køleskab.[2] Udstrygninger skal fremstilles inden for 24 timer ved brug af blod opsamlet i oxalat.[5] Når der benyttes prøver fra nyfødte, anbefales det, at blodet fortyndes med 0,85 % saltvand, da sådanne prøver har et højt indhold af HbF. Blodudstrygninger er ikke stabile og skal analyseres umiddelbart efter klargøring.

Bemærkninger

Til kvalitetskontrolformål anbefales det, at blod fra en normal voksen (HbA) og fra en nyfødt eller et spædbarn (HbF) inkluderes i hver serie af tests. Barr og Shafer[6] rapporterer, at fikserede positive kontrolglas fra navlestrengsblod i EDTA kan opbevares i op til 1 år ved -20 °C i en forseglet papæske. Negative EDTA-kontroller elueres dog ikke helt efter opbevaring i mere end 2 måneder ved -20 °C. Disse forskere foreslår, at der klargøres positive og negative udstrygninger på det samme objektglas, hvilket giver klare og hurtige kontraster som reference ved aflæsning af testobjektglas.

Normale områder[7]

Alder	Fosterhæmoglobin (%)
Ved fødslen	50-90
< 2 år	0-4
> 2 år	0-2

Procedure

1. Citratfosfatbufferopløsning skal opvarmes til 37 °C i en Coplin-skål eller farvningsskål.
2. Brug rene, mærkede objektglas til at lave tynde blodudstrygninger. Forbered KONTROL-objektglas ved brug af positivt HbF-blod (navlestrengsblod) og normalt voksenblod. Lad lufttørre i ca. 10 minutter.
3. Fiksér objektglassene ved at nedsænke dem i ethanolfiksativ i 5 minutter, skyl grundigt med postevand, og lad dem lufttørre.
4. Nedsænk TEST- og KONTROL-objektglas i forvarmet citratfosfatbufferopløsning ved 37 °C i 5 minutter. Rør i opløsningen efter 1 og 3 minutters nedsænkning. Graden af omrøring kan varieres for at opnå optimale resultater. Skyl grundigt med destilleret vand, og lad glassene lufttørre **helt** for at undgå farvningsartefakter.
5. Farv objektglassene i 3 minutter i sur hæmatoxylinopløsning. Skyl objektglassene grundigt med destilleret vand, og ryst overskydende vand af.
6. Kontrastfarv objektglassene i 4 minutter i 0,1 % eosin B-opløsning. Skyl grundigt med destilleret vand, og lad dem lufttørre.
7. Sæt et **tørt** dækglas på objektglasset, og undersøg det ved brug af olieimmersion (1000X). Fravær af HbF ses tydeligt ved tilstedeværelsen af spøgelsesceller, mens bibevaret HbF får cellerne til at fremstå klart røde. Påfør **ikke** olie direkte på objektglasset. (**Bemærk**: 400X-forstørrelsen kan bruges, men det resulterende større felt kan være sværere at optælle).

Præstationskarakteristika

Andelen af erytrocytter, der indeholder fosterhæmoglobin, kan vurderes på flere måder. Ved undersøgelse af evidens for HbF-holdige celler i maternelt blod anbefaler Oski og Naiman[3] følgende:

1. Tæl det samlede antal erytrocytter i 5 felter, og bestem det gennemsnitlige antal pr. felt.
2. Tæl antallet af dybt farvede HbF-holdige erytrocytter i ca. 30 felter, og bestem det gennemsnitlige antal pr. felt.
3. Beregn procentdelen af HbF-erytrocytter på basis af det samlede antal erytrocytter pr. felt.

Resultater rapporteres som procentvis HbF-forekomst.

Ifølge Oski og Naiman[3] er denne metode i stand til at detektere ned til 0,1 ml fosterblod i moderens kredsløb.

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
2851	Citratfosfatbuffer-koncentrat	Foster-hæmoglobin	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
2852	Sur hæmatoxylin-opløsning	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
2853	Eosin B-opløsning	Foster-hæmoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Forårsager alvorlig øjenirritation.

H350 Kan fremkalde kræft.

P201 Indhent særlige anvisninger før brug.

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

P264 Vask huden grundigt efter brug.

P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P280 Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

P305 + P351 + P338 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.

P308 + P313 VED eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

P337 + P313 Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.

P405 Opbevares under lås.

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	REF	Katalognummer
	Se brugsanvisningen	LOT	Batchkode
EC REP	Autoriseret repræsentant i Det Europæiske Fællesskab/Den Europæiske Union	CE	Den Europæiske Unions overensstemmelseserklæring (defineret i IVDR 2017/746)
	Sidste anvendelsesdato	IVD	Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik
	Temperaturgrænse		Forsigtig
	Fremstillingsdato		Importør
CH REP	Angiver den autoriserede repræsentant i Schweiz		

Referencer

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

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. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Opdateret litteraturhenvisninger. Tilføjet en revisionshistoriktabel. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet CH-REP-oplysninger.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Bruksanvisning

Fosterhemoglobin-sats

Förfarande nr. 285

IVD CE

Avsedd användning

Fosterhemoglobin-reagenser är avsedda att användas som en allmän histokemisk färgning i laboratoriet för fastställning av syraeluering av fosterhemoglobin i blodutstryk. Fosterhemoglobinfärgningsreagenser är avsedda för "*in vitro*-diagnostik". Endast för yrkesmässigt bruk. I detta manuella, semikvantitativa förfarande detekteras fosterhemoglobin i erytrocyter från humana blodutstryksprover.

Framsteg inom tekniker för proteinisolering och karakterisering ledde till upptäckten att det finns flera särskiljande egenskaper som gör det möjligt att skilja fosterhemoglobin från vuxenhemoglobin. Bland dessa är fosterhemoglobinets (hemoglobin F) resistens mot syraeluering. När blodutstryk till exempel nedsänks i syrabuffert elueras vuxenhemoglobin från erytrocyterna, medan fosterhemoglobin inte gör det. Om blodutstryk behandlas på detta sätt och därefter färgas kommer erytrocyter med hemoglobin F att ta upp färgningen, medan de som endast innehåller vuxenhemoglobin visas som "spöken".

Objektglastekniken för att demonstrera fosterhemoglobin med avseende på dess motståndskraft mot syraeluering föreslogs ursprungligen av Kleihauer et al.,[1] och modifierades senare av Shepard et al.[2] Den Sigma-producerade representerar en ytterligare förbättring av detta tillvägagångssätt som beskrivet av Oski och Naiman.[3]

Det blir allt vanligare i fall av Rh-inkompatibilitet att undertrycka immunreaktioner mot röda blodkroppar som kommer in i moderns cirkulation från fostret. Mängden specifikt gammaglobulin, innehållande anti-Rh(D) som ska administreras, beräknas genom att bedöma omfattningen av fetomaternell blödning.[4]

Enligt den beskrivna tekniken doppas blodutstryk, som har torkats och fixerats ordentligt, i en citratbuffert med pH 3,3 vid 37 °C. Vuxenhemoglobin A (HbA) löses ut ur cellerna, medan fosterhemoglobin (HbF) som är syraresistent förblir intracellulärt och kan färgas för mikroskopisk undersökning.

Reagenser

Citratfosfatbuffertkoncentrat (kat.-nr. 2851)
Natriumcitrat, 0,7 mol/l, och natriumfosfat, 0,6 mol/l, kloroform tillsatt som konserveringsmedel

Acid Hematoxylin Solution (kat.-nr. 2852)
Certifierat hematoxylin, 1 g/l, C.I. 75290, aluminiumammoniumsulfat, natriumjodater och stabiliseringsmedel, pH 3,3

Eosin B-lösning (kat.-nr. 2853)
Eosin B, 0,1 %, vattenlösning, C.I. 45400. Natriumazid, 0,1%, tillsatt som konserveringsmedel

Särskilt materiel som krävs men inte tillhandahålls

- Mikroskop
- Objektglas, täckglas
- Färgställ/Coplin-burkar
- Vattenbad, 37 °C
- Etanolfixeringsmedel (kat.-nr. 2858) 80 % v/v etylalkohol

Förvaring och hållbarhet

Förvara citratfosfatbuffertkoncentrat i kylskåp (2-8 °C). Kassera om det finns tecken på mikrobiell tillväxt.

Förvara citratfosfatbuffertlösning i kylskåp (2-8 °C). Stabil i två veckor. Använd en färsk alikvot varje dag. Kassera om det finns tecken på mikrobiell tillväxt.

Förvara sur hematoxylinlösning och eosin B-lösning i rumstemperatur (18-26 °C). Lösningar kan återanvändas om de förvaras i tätt förslutna färgningsburkar i dämpat ljus.

Etanolfixeringsmedel bör förvaras i rumstemperatur. Förvaras tätt försluten och som brandfarlig vätska. Lösningen kan återanvändas men bör kasseras om fixeringen inte är tillräcklig.

Försämring

Kassera sur hematoxylinlösning när tiden som krävs för lämplig färgning överstiger 8 minuter.

Beredning

Citratfosfatbuffertlösning framställs genom att späda 1 volym citratfosfatbuffertkoncentrat med 9 volymer vatten.

Sur hematoxylinlösning, eosin B-lösning och etanolfixeringsmedel är klara att användas.

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

Alla prover måste vara tydligt märkta. Lämpliga instrument måste användas för att ta och förbereda prover. Följ tillverkarens bruksanvisning.

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.

Antingen kapillärt eller venöst blod kan användas. Kapillärt blod kan överföras direkt till ett rent objektglas. Venöst blod ska läggas till ett rör som innehåller EDTA eller oxalat. För enkelhetens skull kan du använda 1–2 droppar 2 % EDTA-lösning (kat.nr 2854) per ml blod (1 droppe = 1 mg). Blod-EDTA-blandningar har rapporterats vara lämpliga att använda i upp till 2 veckor när de förvaras i kylskåp.[2] Utstryk ska beredas inom 24 timmar från blod som provtagits i oxalat.[5] När prover från en nyfödd används rekommenderas det att blodet späds med 0,85 % koksaltlösning eftersom sådana prover har en hög halt av HbF. Blodutstryk är inte stabila och måste testas omedelbart efter beredning.

Anmärkningar

För kvalitetskontrollsändamål rekommenderas att blod från en normal vuxen (HbA) och från en nyfödd eller ett spädbarn (HbF) inkluderas i varje serie tester. Barr och Shafer[6] rapporterar att fixerade positiva kontrollobjektglas från navelsträngsblod i EDTA kan bevaras i upp till 1 år vid -20 °C i en förseglad kartong. EDTA-negativa kontroller eluerar dock inte fullständigt efter att ha förvarats i mer än 2 månader vid –20 °C. Dessa forskare föreslår att man framställer positiva och negativa utstryk på samma objektglas. På så sätt får man tydliga och snabba kontraster som referens vid avläsning av testobjektglasen.

Normalintervall[7]

Ålder	Fosterhemoglobin (%)
Vid födseln	50–90
< 2 år	0–4
> 2 år	0–2

Förfarande

1. Citratfosfatbuffertlösning ska värmas till 37 °C i en Coplin-burk eller färgningsskål.
2. Använd rena, märkta objektglas för att göra tunna blodutstryk. Förbered KONTROLL-objektglas med positivt HbF-blod (navelsträngsblod) och normalt vuxenblod. Lufttorka i cirka 10 minuter.
3. Fixera objektglasen genom att doppa i etanolfixeringsmedel i 5 minuter, skölj noggrant med kranvatten och lufttorka.
4. Sänk ned TEST- och KONTROLL-objektglasen i förvärmd citratfosfatbuffertlösning vid 37 °C i 5 minuter. Rör om efter 1 och 3 minuters nedsänkning. Graden av omrörning kan varieras för att uppnå de mest önskvärda resultaten. Skölj noggrant med destillerat vatten och lufttorka **helt** för att undvika fläckar.
5. Färga objektglasen i 3 minuter i sur hematoxylinlösning. Skölj objektglasen noggrant med destillerat vatten och skaka av överflödigt vatten.
6. Motfärga objektglasen i 4 minuter i 0,1 % eosin B-lösning. Skölj noggrant med destillerat vatten och lufttorka.
7. Placera **torrt** täckglas på objektglaset och undersök med oljeimmersion (1000X). Frånvaron av HbF syns genom närvaron av spökceller medan bibehållen HbF gör att celler ser ljusröda ut. Applicera **inte** olja direkt på objektglaset. (**Obs**! 400X förstoring kan användas, men det resulterande större fältet kan vara svårare att räkna.)

Prestandaegenskaper

Andelen erytrocyter som innehåller fosterhemoglobin kan uppskattas på flera sätt. När man studerade bevis för HbF-innehållande celler i maternellt blod rekommenderade Oski och Naiman[3] följande:

1. Räkna totalt antal erytrocyter i fem fält och bestäm det genomsnittliga antalet per fält.
2. Räkna antalet djupt färgade HbF-innehållande erytrocyter i cirka 30 fält och bestäm det genomsnittliga antalet per fält.
3. Beräkna procentandelen HbF-erytrocyter på grundval av det totala antalet erytrocyter per fält.

Resultaten rapporteras som procent HbF närvarande.

Enligt Oski och Naiman[3] kan denna metod detektera så lite som 0,1 ml fosterblod i moderns cirkulation.

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
2851	Citratfosfatbuffert-koncentrat	Fosterhemoglobin	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2852	Sur hematoxylin-lösning	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2853	Eosin B-lösning	Fosterhemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Orsakar allvarlig ögonirritation.

H350 Kan orsaka cancer.

P201 Inhämta särskilda instruktioner före användning.

P202 Hantera inte förrän alla säkerhetsföreskrifter har lästs och förståtts.

P264 Tvätta huden noggrant efter hantering.

P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.

P280 Använd ögonskydd/ansiktsskydd.

P305 + P351 + P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

P308 + P313 Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp.

P337 + P313 Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

P405 Förvaras inlåst.

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

Referenser

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktuppgifter

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

Revisionshistorik

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Uppdaterat litteraturreferenserna. Lagt till en tabell över revisionshistoriken. Lagt till varningar och faror. Lagt till CH-REP-information.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Instruções de utilização

Kit de Hemoglobina fetal

Procedimento N.º 285

IVD CE

Utilização prevista

Os reagentes para hemoglobina fetal destinam-se a ser utilizados como uma coloração histoquímica laboratorial geral para a determinação da hemoglobina fetal por eluição ácida em esfregaços de sangue. Os reagentes de coloração de hemoglobina fetal destinam-se a "Utilização para diagnóstico *in vitro*". Apenas para utilização por profissionais. Este manual, procedimento semi-quantitativo, deteta hemoglobina fetal em eritrócitos de amostras de esfregaços de sangue humano.

Os avanços nas técnicas de isolamento e caraterização de proteínas levaram à descoberta de que existem várias propriedades distintivas que permitem diferenciar a hemoglobina fetal da adulta. Entre estas encontra-se a resistência da hemoglobina fetal (hemoglobina F) à eluição ácida. Quando os esfregaços de sangue são imersos em tampão ácido, por exemplo, a hemoglobina adulta é eluída dos eritrócitos, enquanto que o mesmo não acontece com a hemoglobina fetal. Se os esfregaços de sangue forem tratados desta maneira e posteriormente corados, os eritrócitos com hemoglobina F ocuparão a coloração, enquanto que os que contêm apenas hemoglobina adulta aparecem como "fantasmas".

A técnica de lâmina para demonstrar a hemoglobina fetal em termos da sua resistência à eluição ácida foi originalmente proposta por Kleihauer et al.,[1] e posteriormente modificada por Shepard et al.[2] A Sigma produzida representa uma melhoria adicional nesta abordagem, conforme descrito por Oski e Naiman.[3]

Está a tornar-se cada vez mais comum nos casos de incompatibilidade de Rh suprimir as reações imunitárias aos glóbulos vermelhos que entram na circulação materna através do feto. A quantidade de gamaglobulina específica, contendo anti-Rh(D) a administrar, é calculada através da avaliação da magnitude da hemorragia fetal-materna.[4]

De acordo com a técnica descrita, os esfregaços de sangue, que foram devidamente secos e fixados, são imersos num tampão de citrato com pH 3,3 a 37 °C. A hemoglobina A adulta (HbA) dissolve-se das células, enquanto a hemoglobina fetal (HbF), que é resistente aos ácidos, permanece intracelular e pode ser corada para fins de exame microscópico.

Reagentes

Concentrado de Tampão fosfato-citrato (N.º de cat. 2851)
Citrato de sódio, 0,7 mol/l, e fosfato de sódio, 0,6 mol/l, clorofórmio adicionado como conservante

Solução de Hematoxilina ácida (N.º de cat. 2852)
Hematoxilina, certificada, 1 g/l, C.I. 75290, sulfato de alumínio e amónio, iodato de sódio e estabilizadores, pH 3,3

Solução de Eosina B (N.º de cat. 2853)
Eosina B, 0,1%, solução aquosa, C.I. 45400. Azida de sódio, 0,1%, adicionada como conservante

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Microscópio
- Lâminas para microscópio, lamelas
- Suporte de coloração/Jarras de Coplin
- Banho-maria, 37 °C
- Fixador de etanol (N.º de Cat. 2858) álcool etílico 80% v/v

Conservação e estabilidade

Conservar o Concentrado de Tampão fosfato-citrato no frigorífico (2-8 °C). Eliminar se houver evidências de crescimento microbiano.

Conservar a Solução de Tampão fosfato-citrato no frigorífico (2-8 °C). Estável durante 2 semanas. Utilizar uma alíquota fresca todos os dias. Eliminar se houver evidências de crescimento microbiano.

Armazenar a Solução de Hematoxilina ácida e a Solução de Eosina B à temperatura ambiente (18-26 °C). As soluções podem ser reutilizadas se forem conservadas em frascos de coloração firmemente selados num ambiente com luz ténue.

O Fixador de etanol deve ser conservado à temperatura ambiente. Conservar firmemente selado e como um líquido inflamável. A solução pode ser reutilizada mas deve ser eliminada se a fixação não for adequada.

Deterioração

Eliminar a Solução de Hematoxilina ácido quando o tempo necessário para uma coloração adequada exceder 8 minutos.

Preparação

A Solução de Tampão fosfato-citrato é preparada diluindo 1 volume de Concentrado de Tampão fosfato-citrato em 9 volumes de água.

A Solução de Hematoxilina ácida, a Solução de Eosina B e o Fixador de Etanol são fornecidos prontos a utilizar.

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 infeciosas 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

Todas as amostras devem ser rotuladas com clareza. Devem ser usados instrumentos adequados para a obtenção e preparação das amostras. Siga as instruções de utilização do fabricante.

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 infeciosos.

Pode ser utilizado sangue capilar ou venoso. O sangue capilar pode ser transferido diretamente para uma lâmina de microscópio limpa. O sangue venoso deve ser adicionado a um tubo contendo EDTA ou oxalato. Para fins de conveniência, use 1-2 gotas de Solução de EDTA a 2% (N.º de Cat. 2854) por ml de sangue (1 gota = 1 mg). Embora as misturas de sangue-EDTA tenham sido relatadas como sendo satisfatórias para utilização durante um período de até 2 semanas quando refrigeradas.[2] Os esfregaços devem ser preparados no prazo de 24 horas a partir da colheita de sangue em oxalato.[5] Utilizando amostras do recém-nascido, recomenda-se que o sangue seja diluído com solução salina a 0,85%, visto que tais amostras têm um elevado teor de HbF. Os esfregaços de sangue não são estáveis e devem ser testados imediatamente após a sua preparação.

Notas

Para efeitos de controlo de qualidade, recomenda-se a inclusão de sangue de um adulto normal (HbA) e de um recém-nascido ou bebé (HbF) em cada série de testes. Barr and Shafer[6] relatam que as lâminas de controlo positivo fixadas de sangue do cordão umbilical em EDTA podem ser conservadas até 1 ano a -20 °C, numa caixa de cartão selada. No entanto, os controlos negativos com EDTA não eluem completamente após terem sido armazenados durante mais de 2 meses a −20 °C. Estes investigadores sugerem a preparação de esfregaços positivos e negativos na mesma lâmina; fornecendo assim contrastes claros e rápidos como referência na leitura das lâminas de teste.

Intervalos normais[7]

Idade	Hemoglobina fetal (%)
À nascença	50-90
< 2 anos	0-4
> 2 anos	0-2

Procedimento

1. A Solução de Tampão fosfato-citrato deve ser aquecida a 37 °C numa jarra de Coplin ou num tina de coloração.
2. Usando lâminas de microscópio limpas e rotuladas, efetuar esfregaços de sangue fino. Preparar lâminas de CONTROLO usando sangue HbF positivo (sangue de cordão) e sangue normal de adulto. Secar ao ar aproximadamente 10 minutos.
3. Fixar as lâminas submergindo em Fixador de Etanol durante 5 minutos, enxaguar cuidadosamente com água da torneira e deixar secar ao ar.
4. Submergir as lâminas de TESTE e CONTROLO na Solução de Tampão fosfato-citrato pré-aquecida a 37 °C durante 5 minutos. Agitar após 1 e 3 minutos de imersão. O grau de agitação pode ser variado para alcançar os resultados mais desejáveis. Enxaguar cuidadosamente com água destilada e secar ao ar **completamente** para evitar artefactos na coloração.
5. Corar as lâminas durante 3 minutos em Solução de Hematoxilina ácida. Enxaguar cuidadosamente as lâminas com água destilada e sacudir o excesso de água.
6. Efetuar a contracoloração das lâminas durante 4 minutos com a Solução de eosina B a 0,1%. Enxaguar cuidadosamente com água destilada e deixar secar ao ar.
7. Colocar a lamela **seca** sobre a lâmina e examinar usando lente de imersão em óleo (1000X). A ausência de HbF é evidente pela presença de células fantasma ao passo que a retenção de HbF faz com que as células surjam a vermelho vivo. **Não** aplicar óleo diretamente na lâmina. (**Nota**: pode utilizar a ampliação de 400X, mas o campo maior resultante pode ser mais difícil de contar).

Características do desempenho

A proporção de eritrócitos contendo hemoglobina fetal pode ser estimada de várias formas. Ao estudar evidências de sangue materno de células contendo HbF, Oski e Naiman[3] recomendaram o seguinte:

1. Contar o número total de eritrócitos em 5 campos e determinar o número médio por campo.
2. Contar o número total de eritrócitos contendo HbF profundamente corados em cerca de 30 campos e determinar o número médio por campo.
3. Calcular a percentagem de eritrócitos HbF com base no número total de eritrócitos por campo.

Os resultados são relatados como a percentagem de HbF presente.

Segundo Oski e Naiman[3], este método é capaz de detetar a partir de 0,1 ml de sangue fetal na circulação materna.

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	Especifici-dade interensaio	Sensibili-dade interensaio
2851	Concentrado de Tampão fosfato-citrato	Hemoglobi-na fetal	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2852	Solução de Hematoxilina ácida	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
2853	Solução de Eosina B	Hemoglobi-na fetal	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.

285C, 285D:

H319 Provoca irritação ocular grave.

H350 Pode provocar cancro.

P201 Pedir instruções específicas antes da utilização.

P202 Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança.

P264 Lavar a pele cuidadosamente após manuseamento.

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

P280 Usar proteção ocular/proteção facial.

P305 + P351 + P338 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.

P308 + P313 EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico.

P337 + P313 Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico.

P405 Armazenar num local fechado à chave.

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	REF	Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização	LOT	Código do lote
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia/União Europeia	CE	Declaração de Conformidade da União Europeia (definida na diretiva RDIV 2017/746)
	Data de validade	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
	Limite de temperatura		Atenção
	Data de fabrico		Importador
CH REP	Indica o representante autorizado na Suíça		

Referências

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

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. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Atualização das referências bibliográficas. Adição de uma tabela de histórico de revisões. Adição de Advertências e perigos. Adição das informações CH-REP.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Οδηγίες χρήσης

Κιτ εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης

Διαδικασία αρ. 285

IVD CE

Προοριζόμενη χρήση

Τα αντιδραστήρια εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης προορίζονται για χρήση ως γενική εργαστηριακή ιστοχημική χρώση για τον προσδιορισμό της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης σε επιχρίσματα αίματος μέσω όξινης έκλουσης. Τα αντιδραστήρια χρώσης εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης προορίζονται για «*in vitro* διαγνωστική χρήση». Για επαγγελματική χρήση μόνο. Αυτή η μη αυτόματη, ημι-ποσοτική διαδικασία ανιχνεύει την εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη σε ερυθροκύτταρα δειγμάτων επιχρίσματος ανθρώπινου αίματος.

Οι πρόοδοι στις τεχνικές απομόνωσης και χαρακτηρισμού των πρωτεϊνών οδήγησαν στην ανακάλυψη ότι υπάρχουν αρκετές ιδιότητες διάκρισης που καθιστούν δυνατή τη διαφοροποίηση της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης από την αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων. Μεταξύ αυτών είναι η αντοχή της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (αιμοσφαιρίνη F) στην όξινη έκλουση. Για παράδειγμα, όταν τα επιχρίσματα αίματος εμβαπτίζονται σε ρυθμιστικό διάλυμα οξέος, η αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων εκλούεται από τα ερυθροκύτταρα, ενώ η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη όχι. Εάν τα επιχρίσματα αίματος υποβληθούν σε επεξεργασία με αυτόν τον τρόπο και κατόπιν σε χρώση, τα ερυθροκύτταρα που έχουν αιμοσφαιρίνη F θα χρωματιστούν, ενώ αυτά που περιέχουν μόνο αιμοσφαιρίνη ενηλίκων εμφανίζονται ως «φαντάσματα».

Η τεχνική αντικειμενοφόρων για την αναγνώριση της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης με βάση την αντοχή της στην όξινη έκλουση προτάθηκε αρχικά από τους Kleihauer et al.,[1] και αργότερα τροποποιήθηκε από τους Shepard et al.[2] Το προϊόν της Sigma αντιπροσωπεύει μια περαιτέρω βελτίωση αυτής της προσέγγισης, όπως περιγράφεται από τους Oski και Naiman.[3]

Σε περιπτώσεις ασυμβατότητας Rh, γίνεται ολοένα και συχνότερη η καταστολή των ανοσολογικών αντιδράσεων στα ερυθρά αιμοσφαίρια που εισέρχονται στη μητρική κυκλοφορία από το έμβρυο. Η ποσότητα της ειδικής γ-σφαιρίνης, η οποία περιέχει το αντι-Rh(D) που πρόκειται να χορηγηθεί, υπολογίζεται αξιολογώντας το μέγεθος της αιμορραγίας εμβρύου-μητέρας.[4]

Σύμφωνα με την περιγραφόμενη τεχνική, επιχρίσματα αίματος, τα οποία έχουν στεγνώσει και μονιμοποιηθεί σωστά, εμβαπτίζονται σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού με pH 3,3 στους 37 °C. Η αιμοσφαιρίνη ενηλίκων A (HbA) διαλύεται έξω από τα κύτταρα, ενώ η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη (HbF), που είναι ανθεκτική στα οξέα, παραμένει ενδοκυτταρική και μπορεί να χρωματιστεί για μικροσκοπική εξέταση.

Αντιδραστήρια

Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικών φωσφορικών (Αρ. καταλόγου 2851)
Κιτρικό νάτριο, 0,7 mol/L, και φωσφορικό νάτριο, 0,6 mol/L, χλωροφόρμιο που προστίθεται ως συντηρητικό

Όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης (Αρ. καταλόγου 2852)
Αιματοξυλίνη, πιστοποιημένη, 1 g/L, C.I. 75290, θειικό αργίλιο αμμωνίου, ιωδικό νάτριο και σταθεροποιητές, pH 3,3

Διάλυμα ηωσίνης B (Αρ. καταλόγου 2853)
Ηωσίνη B, 0,1%, υδατικό διάλυμα, C.I. 45400. Αζίδιο του νατρίου, 0,1%, προστίθεται ως συντηρητικό

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Μικροσκόπιο
- Αντικειμενοφόροι μικροσκοπίου, καλυπτρίδες
- Βάση χρώσης/Δοχεία Coplin
- Υδατόλουτρο, 37 °C
- Μονιμοποιητικό αιθανόλης (Αρ. καταλόγου 2858) 80% v/v αιθυλική αλκοόλη

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικών φωσφορικών στο ψυγείο (2-8 °C). Απορρίψτε εάν υπάρχουν ενδείξεις ανάπτυξης μικροβίων.

Φυλάσσετε το ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών φωσφορικών στο ψυγείο (2-8 °C). Σταθερό για 2 εβδομάδες. Χρησιμοποιήστε φρέσκο υποπολλαπλάσιο κάθε μέρα. Απορρίψτε εάν υπάρχουν ενδείξεις ανάπτυξης μικροβίων.

Φυλάσσετε το όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης και το διάλυμα ηωσίνης B σε θερμοκρασία δωματίου (18-26 °C). Τα διαλύματα μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν, εάν φυλάσσονται σε ερμητικά σφραγισμένα δοχεία χρώσης σε ημίφως.

Το μονιμοποιητικό αιθανόλης πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου. Φυλάσσεται ερμητικά σφραγισμένο και ως εύφλεκτο υγρό. Το διάλυμα μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί, αλλά θα πρέπει να απορριφθεί εάν η μονιμοποίηση δεν είναι επαρκής.

Αλλοίωση

Απορρίψτε το όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης, όταν ο χρόνος που απαιτείται για την κατάλληλη χρώση υπερβαίνει τα 8 λεπτά.

Παρασκευή

Το ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών φωσφορικών παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 όγκο συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικών φωσφορικών με 9 όγκους νερού.

Το όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης, το διάλυμα ηωσίνης B και το μονιμοποιητικό αιθανόλης είναι έτοιμα για χρήση.

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 συνήθεις προφυλάξεις κατά τον χειρισμό εργαστηριακών αντιδραστηρίων. Απορρίψτε τα απόβλητα τηρώντας όλους τους τοπικούς, πολιτειακούς, περιφερειακούς ή εθνικούς κανονισμούς.

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

Όλα τα δείγματα πρέπει να φέρουν σαφή επισήμανση. Πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα όργανα για τη λήψη και την προετοιμασία δειγμάτων. Ακολουθήστε τις οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή.

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.

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε τριχοειδικό είτε φλεβικό αίμα. Το τριχοειδικό αίμα μπορεί να μεταφερθεί απευθείας σε μια καθαρή αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου. Το φλεβικό αίμα πρέπει να προστεθεί σε ένα σωληνάριο που περιέχει EDTA ή οξαλικά. Για ευκολία, χρησιμοποιήστε 1-2 σταγόνες διαλύματος EDTA 2% (Αρ. καταλόγου 2854) ανά mL αίματος (1 σταγόνα = 1 mg). Παρόλο που τα μείγματα αίματος-EDTA έχουν αναφερθεί ότι είναι ικανοποιητικά για χρήση έως και 2 εβδομάδες όταν φυλάσσονται σε ψυγείο.[2] Τα επιχρίσματα πρέπει να παρασκευάζονται εντός 24 ωρών από αίμα που συλλέγεται σε οξαλικά.[5] Όταν χρησιμοποιούνται δείγματα από το νεογέννητο, συνιστάται η αραίωση του αίματος με φυσιολογικό ορό 0,85%, καθώς τέτοια δείγματα έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε HbF. Τα επιχρίσματα αίματος δεν είναι σταθερά και πρέπει να ελέγχονται αμέσως μετά την παρασκευή.

Σημειώσεις

Για λόγους ποιοτικού ελέγχου, συνιστάται να συμπεριλαμβάνεται αίμα από έναν υγιή ενήλικα (HbA) και από ένα νεογέννητο ή βρέφος (HbF) σε κάθε σειρά δοκιμασιών. Οι Barr και Shafer[6] αναφέρουν ότι οι μονιμοποιημένες θετικές αντικειμενοφόροι ελέγχου από αίμα ομφάλιου λώρου σε EDTA μπορούν να διατηρηθούν έως και 1 έτος στους -20 °C, σε σφραγισμένο χαρτοκιβώτιο. Ωστόσο, οι αρνητικοί μάρτυρες EDTA δεν εκλούονται πλήρως μετά από φύλαξη για περισσότερο από 2 μήνες σε θερμοκρασία −20 °C. Οι εν λόγω ερευνητές προτείνουν την παρασκευή θετικών και αρνητικών επιχρισμάτων στην ίδια αντικειμενοφόρο, επιτυγχάνοντας έτσι σαφή και γρήγορη αντίθεση ως αναφορά κατά την ερμηνεία των αντικειμενοφόρων δοκιμασίας.

Φυσιολογικό εύρος[7]

Ηλικία	Εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη (%)
Κατά τη γέννηση	50-90
< 2 ετών	0-4
> 2 ετών	0-2

Διαδικασία

1. Το ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών φωσφορικών θα πρέπει να θερμανθεί στους 37 °C σε δοχείο Coplin ή τρυβλίο χρώσης.
2. Χρησιμοποιώντας καθαρές αντικειμενοφόρους μικροσκοπίου με επισήμανση, δημιουργήστε λεπτά επιχρίσματα αίματος. Παρασκευάστε αντικειμενοφόρους ΕΛΕΓΧΟΥ με αίμα θετικό σε HbF (αίμα ομφάλιου λώρου) και αίμα υγιούς ενήλικα. Στεγνώστε στον αέρα για περίπου 10 λεπτά.
3. Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους εμβαπτίζοντας σε μονιμοποιητικό αιθανόλης για 5 λεπτά, ξεπλύνετε καλά με νερό βρύσης και στεγνώστε στον αέρα.
4. Εμβαπτίστε τις αντικειμενοφόρους ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ και ΕΛΕΓΧΟΥ σε προθερμασμένο ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών φωσφορικών στους 37 °C για 5 λεπτά. Αναδεύστε μετά από 1 και 3 λεπτά εμβάπτισης. Ο βαθμός ανάδευσης μπορεί να ποικίλλει για να επιτευχθούν τα πιο επιθυμητά αποτελέσματα. Ξεπλύνετε καλά με απεσταγμένο νερό και στεγνώστε **εντελώς** στον αέρα για να αποφύγετε τεχνουργήματα χρώσης.
5. Χρωματίστε τις αντικειμενοφόρους για 3 λεπτά σε όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης. Ξεπλύνετε καλά τις αντικειμενοφόρους με απεσταγμένο νερό και τινάξτε το επιπλέον νερό.
6. Πραγματοποιήστε αντίχρωση των αντικειμενοφόρων για 4 λεπτά σε διάλυμα ηωσίνης B 0,1%. Ξεπλύνετε καλά με απεσταγμένο νερό και στεγνώστε στον αέρα.
7. Τοποθετήστε **στεγνή** καλυπτρίδα στην αντικειμενοφόρο και εξετάστε τη χρησιμοποιώντας εμβάπτιση σε λάδι (1000X). Η απουσία HbF είναι εμφανής από την παρουσία κυττάρων-φαντάσματα, ενώ η διατηρούμενη HbF κάνει τα κύτταρα να εμφανίζονται με έντονο κόκκινο. **Μην** απλώνετε λάδι απευθείας στην αντικειμενοφόρο. (**Σημείωση**: Μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μεγέθυνση 400X, αλλά το μεγαλύτερο πεδίο που προκύπτει μπορεί να είναι πιο δύσκολο να μετρηθεί.)

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Η αναλογία των ερυθροκυττάρων που περιέχουν εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη μπορεί να υπολογιστεί με διάφορους τρόπους. Κατά τη μελέτη ενδείξεων στο αίμα της μητέρας για κύτταρα που περιέχουν HbF, οι Oski και Naiman[3] συνέστησαν τα εξής:

1. Μέτρηση του συνολικού αριθμού των ερυθροκυττάρων σε 5 πεδία και προσδιορισμό του μέσου αριθμού ανά πεδίο.
2. Μέτρηση του αριθμού των έντονα χρωματισμένων ερυθροκυττάρων που περιέχουν HbF σε περίπου 30 πεδία και προσδιορισμό του μέσου αριθμού ανά πεδίο.
3. Υπολογισμό του ποσοστού των ερυθροκυττάρων με HbF με βάση τον συνολικό αριθμό των ερυθροκυττάρων ανά πεδίο.

Τα αποτελέσματα αναφέρονται με τη μορφή του ποσοστού υπάρχουσας HbF.

Σύμφωνα με τους Oski και Naiman[3] αυτή η μέθοδος είναι ικανή να ανιχνεύσει ακόμη και μόλις 0,1 mL εμβρυϊκού αίματος στην κυκλοφορία της μητέρας.

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. καταλόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
2851	Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικών φωσφορικών	Εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
2852	Όξινο διάλυμα αιματοξυλίνης	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
2853	Διάλυμα ηωσίνης Β	Εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη	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 οποιεσδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνων ή ασφάλειας.

285C, 285D:

H319 Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

P201 Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

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

P264 Πλύνετε την επιδερμίδα σχολαστικά μετά τον χειρισμό.

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

P280 Να φοράτε μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/το πρόσωπο.

P305 + P351 + P338 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.

P308 + P313 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανότητας έκθεσης: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.

P337 + P313 Εάν δεν υποχωρεί ο οφθαλμικός ερεθισμός: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό.

P405 Φυλάσσεται κλειδωμένο.

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	REF	Αριθμός καταλόγου
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης	LOT	Αριθμός παρτίδας
EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση	CE	Δήλωση συμμόρφωσης Ευρωπαϊκής Ένωσης (όπως ορίζεται στην οδηγία IVDR 2017/746)
	Ημερομηνία λήξης	IVD	*in vitro* διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όριο θερμοκρασίας		Προσοχή
	Ημερομηνία παραγωγής		Εισαγωγέας
CH REP	Υποδεικνύει τον Εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπο στην Ελβετία		

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Πληροφορίες επικοινωνίας

Για να κάνετε μια παραγγελία, επισκεφθείτε τον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com. Για την τεχνική εξυπηρέτηση, παρακαλούμε επισκεφθείτε τη σελίδα τεχνικής εξυπηρέτησης στον ιστότοπό μας στη διεύθυνση SigmaAldrich.com/techservice.

Ιστορικό αναθεωρήσεων

Αναθ. 4.0	2014
Αναθ. 5.0	2016
Αναθ. 6.0	2023 Έγινε μεταφορά σε νέο υπόδειγμα με την τρέχουσα επωνυμία. Προσδιορίστηκε για επαγγελματική χρήση στην προοριζόμενη χρήση και τις προφυλάξεις. Η προοριζόμενη χρήση αναθεωρήθηκε για ευθυγράμμιση με τις κατευθυντήριες γραμμές IVDR. Το Δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού ενημερώθηκε σε Δελτίο δεδομένων ασφαλείας. Ενημερώθηκαν οι πληροφορίες επικοινωνίας. Αφαιρέθηκε η οδηγία να ακολουθείται το CLSI για τη συλλογή δειγμάτων. Αφαιρέθηκε το EN 980 και άλλαξε σε EN ISO 15223-1:2021 για τα σύμβολα. Προστέθηκαν πληροφορίες επικοινωνίας για ανεπιθύμητα συμβάντα. Ενημερώθηκαν οι βιβλιογραφικές αναφορές. Προστέθηκε πίνακας ιστορικού αναθεωρήσεων. Προσθήκη προειδοποιήσεων και κινδύνων. Προστέθηκαν τα στοιχεία του εξουσιοδοτημένου αντιπροσώπου στην Ελβετία (CH-REP).
Αναθ. 7.0	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

EC REP MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP 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 δημοσίως προσβάσιμων πόρων.

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

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

Sigma-Aldrich®

Használati utasítás

Magzati hemoglobin készlet

285. sz. eljárás

MERCK

IVD CE

Rendeltetésszerű használat

A magzati hemoglobin reagens a vérkenetben lévő magzati hemoglobin savas eluálással történő kimutatására szolgáló általános laboratóriumi hisztokémiai festék. A magzatihemoglobin-festő reagensek „in *vitro* diagnosztikai felhasználásra" szolgálnak. Kizárólag professzionális használatra. Ez a manuális, félkvantitatív eljárás kimutatja a magzati hemoglobint a humán vérkenetmintákban található eritrocitákból.

A fehérjeizolálás és -jellemzés technikáinak fejlődése ahhoz a felfedezéshez vezetett, hogy számos olyan megkülönböztető tulajdonság létezik, amely lehetővé teszi a magzati és a felnőtt hemoglobin megkülönböztetését. Ezek közé tartozik a magzati hemoglobin (hemoglobin F) savas eluálással szembeni rezisztenciája. Amikor a vérkeneteket például savas pufferbe merítik, a felnőttkori hemoglobin eluálódik az eritrocitákból, míg a magzati hemoglobin nem. Ha a vérkenetet így kezelik, majd megfestik, a hemoglobin F-et tartalmazó eritrociták felveszik a festéket, míg azok, amelyek csak felnőttkori hemoglobint tartalmaznak, „szellemképként" jelennek meg.

A magzati hemoglobin savas elúcióval szembeni ellenálló képessége alapján történő kimutatására szolgáló tárgylemezfestési technikát eredetileg Kleihauer és mtsai[1] javasolták, majd Shepard és mtsai[2] módosították. A gyártott Sigma termék további fejlesztést jelent ebben a megközelítésben, ahogy azt Oski és Naiman leírták.[3]

Rh-inkompatibilitás esetén egyre gyakoribbá válik a magzatból az anyai keringésbe bekerülő vörösvértestekre adott immunreakciók szuppresszálása. Az alkalmazandó, anti-Rh(D)-t tartalmazó specifikus gamma-globulin mennyiségét a magzati-anyai vérzés súlyosságának értékelésével számítják ki.[4]

A leírt technika szerint a megfelelő módon szárított és rögzített vérkeneteket 3,3-es pH-értékű citrátpufferbe merítjük 37 °C-on. A felnőttkori hemoglobin A (HbA) kioldódik a sejtekből, míg a saválló magzati hemoglobin (HbF) a sejten belül marad, és megfesthető mikroszkópos vizsgálathoz.

Reagensek

Citrát-foszfát puffer koncentrátuma (kat. sz.: 2851)
Nátrium-citrát, 0,7 mol és nátrium-foszfát, 0,6 mol, tartósítószerként hozzáadott kloroformmal

Savas hematoxilinoldat (kat. sz.: 2852)
Hematoxilin (tanúsított), 1 g/l, C.I. 75290, alumínium-ammónium-szulfát, nátrium-jodát és stabilizálószerek, pH: 3,3

Eozin B oldat (kat. sz.: 2853)
Eozin B, 0,1%-os vizes oldat, C.I. 45400. Nátrium-azid (0,1%) tartósítószerként hozzáadva

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Mikroszkóp
- Mikroszkópos tárgylemezek és fedőlemezek
- Festőállvány/küvetták
- Vízfürdő, 37 °C
- Etanolos rögzítőoldat (kat. sz.: 2858), 80% (v/v) etil-alkohol

Tárolás és stabilitás

A citrát-foszfát puffer koncentrátumát hűtőszekrényben (2-8 °C) kell tárolni. Ha mikrobiális növekedés jelei tapasztalhatók, dobja ki.

A citrát-foszfát pufferoldatot hűtőszekrényben (2-8 °C) kell tárolni. 2 hétig stabil. Minden nap használjon friss alikvotot. Ha mikrobiális növekedés jelei tapasztalhatók, dobja ki.

A savas hematoxilinoldatot és az eozin B oldatot szobahőmérsékleten (18-26 °C) kell tárolni. Az oldatokat újra fel lehet használni, ha azokat szorosan lezárt festőedényekben, tompított fényben tárolják.

Az etanolos rögzítőoldatot szobahőmérsékleten kell tárolni. Szorosan lezárva, gyülékony folyadékként tárolandó. Az oldat újra felhasználható, de ha a használatával nem megfelelő a rögzítés, ki kell dobni.

Bomlás

A savas hematoxilinoldatot akkor kell kidobni, ha a megfelelő festődéshez szükséges idő meghaladja a 8 percet.

Előkészítés

A citrát-foszfát pufferoldat elkészítéséhez hígítson 1 térfogatrész citrát-foszfát pufferkoncentrátumot 9 térfogatrész vízzel.

A savas hematoxilinoldat, az eozin B oldat és az etanolos rögzítőoldat használatra kész.

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 színérzékeléssel és látásélességgel rendelkeznek a színek és egyéb tárgyak mikroszkóp alatt történő megkülönböztetésére.

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

Eljárás

Mintavétel

Minden mintát egyértelműen fel kell címkézni. A mintavételhez és a minták elkészítéséhez megfelelő eszközöket kell használni. Kövesse a gyártó használati utasítását.

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

Kapilláris- vagy vénás vér is használható. A kapillárisvér közvetlenül egy tiszta mikroszkópos tárgylemezre is felvihető. A vénás vérnek EDTA-t vagy oxalátot tartalmazó csőbe kell kerülnie. A kényelem érdekében a vér 1 ml-éhez használjon 1–2 csepp 2%-os EDTA-oldatot (kat. sz.: 2854) (1 csepp = 1 mg). A beszámolók szerint a vér-EDTA keverékek hűtőszekrényben történő tárolás esetén 2 hétig megfelelően felhasználhatók.[2] Az oxalátban gyűjtött vérből 24 órán belül kenetet kell készíteni.[5] Újszülöttektől származó vérminták felhasználása esetén javasolt a vér 0,85%-os sóoldattal történő hígítása, mivel az ilyen minták HbF-tartalma magasabb. A vérkenetek nem stabilak, és az elkészítés után azonnal meg kell őket vizsgálni.

Megjegyzések

Minőség-ellenőrzési célból javasolt, hogy minden vizsgálatsorozatba bevegyenek egy normál felnőtt (HbA) és egy újszülöttől vagy csecsemőtől (HbF) származó vérmintát. Barr és Shafer[6] beszámolója alapján az EDTA-val a köldökzsinórvérből készült rögzített pozitív kontroll tárgylemezek legfeljebb 1 évig tárolhatók -20 °C-on, lezárt kartondobozban. Ugyanakkor az EDTA-negatív kontrollok 2 hónapnál hosszabb ideig tartó, –20 °C-on történő tárolás után nem eluálódnak teljesen. A kutatók azt javasolják, hogy ugyanazon tárgylemezre készítsenek pozitív és negatív keneteket is; így biztosítva referenciaként egyértelmű és gyors összehasonlítási lehetőséget a vizsgált tárgylemezeken.

Normál tartományok[7]

Életkor	Magzati hemoglobin (%)
Születéskor	50-90
<2 év	0-4
>2 év	0-2

Eljárás

1. A citrát-foszfát pufferoldatot küvettában vagy festőedényben 37 °C-ra kell melegíteni.
2. Tiszta, felcímkézett mikroszkópos tárgylemezek használatával készítsen vékony vérkenetet. Készítsen KONTROLL tárgylemezeket HbF-pozitív vér (köldökzsinórvér) és normál felnőtt vér felhasználásával. Hagyja körülbelül 10 percig levegőn száradni.
3. Rögzítse a tárgylemezeket 5 percig tartó, etanolos rögzítőoldatba történő merítéssel, majd alaposan öblítse le őket csapvízzel és hagyja őket levegőn száradni.
4. Merítse a TESZT és KONTROLL tárgylemezeket előmelegített citrát-foszfát pufferoldatba 37 °C-on 5 percig. 1 és 3 perc bemerítés után rázogassa meg az edényt. A rázogatás erőssége változtatható a kívánt eredmények elérése érdekében. Végezzen alapos öblítést desztillált vízzel, és **teljesen** szárítsa meg a lemezeket levegőn, hogy elkerülje a festési műtermékek képződését.
5. Fesse a lemezeket 3 percig savas hematoxilinoldattal. Alaposan öblítse le a tárgylemezeket desztillált vízzel, és rázza le a felesleges vizet.
6. Végezze el az ellenfestést a lemezeken 4 percig 0,1%-os eozin B oldatban. Alaposan öblítse le desztillált vízzel és hagyja a levegőn megszáradni.
7. Helyezzen **száraz** fedőlemezt a tárgylemezre, és vizsgálja meg olajimmerziós lencsével (1000x). A HbF hiányát a szellemképes sejtek jelenléte mutatja, míg a megmaradt HbF-ek miatt a sejtek élénkvörösek lesznek. **Ne** vigyen fel olajat közvetlenül a tárgylemezre. (**Megjegyzés**: 400x-os nagyítás is használható, de az így kapott nagyobb mezőt nehezebb megszámolni.)

Teljesítményjellemzők

A magzati hemoglobint tartalmazó eritrociták aránya többféleképpen becsülhető meg. A HbF-tartalmú sejtek anyai vérvizsgálata alapján Oski és Naiman[3] ajánlása a következő:

1. Számolja meg az összes eritrocitát 5 mezőben, és határozza meg az egy mezőre eső átlagos számot.
2. Számolja meg az erősen festődött, HbF-tartalmú eritrocitákat 30 mezőben, és határozza meg az egy mezőre eső átlagos számot.
3. Számítsa ki a HbF-tartalmú eritrociták százalékos arányát a mezőnkénti eritrociták teljes száma alapján.

Az eredményeket a jelen lévő HbF százalékos értékeként kell jelenteni.

Oski és Naiman[3] szerint ezzel a módszerrel akár 0,1 ml magzati vér is kimutatható az anyai keringésben.

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

Analitikai teljesítményjellemzők

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

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Teszten belüli specificitás	Teszten belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
2851	Citrát-foszfát puffer koncentrátuma	Magzati hemoglobin	3/3	3/3	3/3	3/3
2852	Savas hematoxilinoldat	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
2853	Eozin B oldat	Magzati hemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Súlyos szemirritációt okoz.

H350 Rákot okozhat.

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.

P264 A használatot követően a bőrt alaposan meg kell mosni.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P280 Szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P305 + P351 + P338 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Folytassa az öblítést.

P308 + P313 Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P337 + P313 Tartós szemirritáció esetén: orvosi ellátást kell kérni.

P405 Elzárva tárolandó.

P501 A tartalmat/edényt engedéllyel rendelkező hulladékkezelő üzemben 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	REF	Katalógusszám
	Lásd a használati utasítást	LOT	Gyártási tétel kódja
EC REP	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben/Európai Unióban	CE	Az Európai Unió megfelelőségi nyilatkozata (az IVDR 2017/746 meghatározása szerint)
	Lejárati dátum	IVD	*In vitro* diagnosztikai orvostechnikai eszköz
STERILE	Hőmérsékleti határértékek		Vigyázat!
	Gyártási dátum		Importőr

CH REP Meghatalmazott képviselő Svájcban

Hivatkozások

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Elérhetőségek

Megrendelés leadásához látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com. Műszaki segítségért látogasson el weboldalunkra: SigmaAldrich.com/techservice.

Változtatási előzmények

4.0 vált.	2014
5.0 vált.	2016
6.0 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. Frissített szakirodalmi hivatkozások. Változtatási előzmények táblázat hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. CH-REP információk hozzáadása.
7.0 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

EC REP MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP 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.

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

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

Sigma-Aldrich

Návod k použití

Souprava pro stanovení fetálního hemoglobinu

Postup č. 285

IVD CE

MERCK

Určené použití

Činidla pro fetální hemoglobin jsou určena k použití jako obecné laboratorní histochemické barvivo pro stanovení fetálního hemoglobinu v krevních nátěrech kyselou elucí. Činidla na barvení fetálního hemoglobinu jsou určena pro „diagnostické použití *in vitro*". Pouze k profesionálnímu použití. Tento manuální semikvantitativní postup detekuje fetální hemoglobin v erytrocytech vzorků stěrů lidské krve.

Pokroky v technikách izolace a charakterizace bílkovin vedly k zjištění, že existuje několik rozlišovacích vlastností, které umožňují odlišit fetální od dospělého hemoglobinu. Mezi ně patří odolnost fetálního hemoglobinu (hemoglobin F) vůči kyselé eluci. Když se například krevní nátěry ponoří do kyselého pufru, dospělý hemoglobin se z erytrocytů eluuje, zatímco fetální hemoglobin nikoli. Pokud jsou krevní nátěry takto ošetřeny a následně obarveny, erytrocyty s hemoglobinem F zachytí barvivo, zatímco erytrocyty obsahující pouze dospělý hemoglobin se budou jevit jako „duchové".

Techniku se sklíčky pro prokázání fetálního hemoglobinu z hlediska jeho odolnosti vůči kyselé eluci původně navrhl Kleihauer a kol.[1] a později upravil Shepard a kol.[2] Výrobek společnosti Sigma představuje další vylepšení tohoto přístupu, jak jej popsali Oski a Naiman.[3]

V případech Rh inkompatibility je stále běžnější potlačovat imunitní reakce na červené krvinky vstupující do krevního oběhu matky z plodu. Množství specifického gama globulinu obsahujícího anti Rh(D), které má být podáno, se vypočítá na základě posouzení závažnosti krvácení plodu a matky.[4]

Podle popsané techniky se krevní nátěry, které byly řádně vysušeny a fixovány, ponoří do citrátového pufru o pH 3,3 při teplotě 37 °C. Dospělý hemoglobin A (HbA) se v buňkách rozpustí, zatímco fetální hemoglobin (HbF), který je odolný vůči kyselinám, uvnitř buněk zůstává a může být obarven pro mikroskopické vyšetření.

Činidla

Koncentrát citrátového fosfátového pufru (kat. č. 2851)
Citronan sodný, 0,7 mol/l, a fosforečnan sodný, 0,6 mol/l, chloroform přidaný jako konzervační přísada

Roztok kyselého hematoxylinu (kat. č. 2852)
Hematoxylin, certifikovaný, 1 g/l, C.I. 75290, síran hlinito-amonný, jodičnany sodné a stabilizátory, pH 3,3

Roztok eosinu B (kat. č. 2853)
Eosin B, 0,1% vodný roztok, C.I. 45400. Azid sodný, 0,1%, přidaný jako konzervační přísada

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Mikroskop
- Mikroskopická podložní sklíčka a krycí sklíčka
- Stojan na barvení / Coplinovy nádoby
- Vodní lázeň, 37 °C
- Ethanolový fixační prostředek (kat. č. 2858) 80% v/v ethylalkohol

Skladování a stabilita

Uchovávejte koncentrát citrátového fosfátového pufru v chladničce (2–8 °C). Pokud uvidíte známky mikrobiálního růstu, pufr zlikvidujte.

Uchovávejte roztok citrátového fosfátového pufru v chladničce (2–8 °C). Stabilní po dobu 2 týdnů. Každý den použijte čerstvou alikvotní část. Pokud uvidíte známky mikrobiálního růstu, pufr zlikvidujte.

Uchovávejte roztok kyselého hematoxylinu a roztok eosinu B při pokojové teplotě (18–26 °C). Roztoky mohou být znovu použity, pokud jsou skladovány v těsně uzavřených nádobách na barvení při tlumeném osvětlení.

Ethanolový fixační prostředek by měl být uchováván při pokojové teplotě. Uchovávejte pevně utěsněné a jako hořlavou kapalinu. Roztok může být znovu použit, ale pokud není fixace dostatečná, měl by být zlikvidován.

Znehodnocení

Roztok kyselého hematoxylinu zlikvidujte, pokud doba potřebná pro vhodné zbarvení přesáhne 8 minut.

Příprava

Citrátový fosfátový pufr se připraví zředěním 1 objemu koncentrátu citrátového fosfátového pufru 9 objemy vody.

Roztok kyselého hematoxylinu, roztok eosinu B a ethanolový fixační prostředek jsou připraveny k použití.

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

Všechny vzorky musí být zřetelně označeny. Pro odběr a přípravu vzorků je nutno používat vhodné nástroje. Dodržujte návod výrobce k použití.

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

Lze použít kapilární nebo žilní krev. Kapilární krev může být přenesena přímo na čisté podložní sklíčko mikroskopu. Žilní krev by měla být přidána do zkumavky obsahující EDTA nebo šťavelan. Pro pohodlné použití použijte 1–2 kapky 2% roztoku EDTA (kat. č. 2854) na 1 ml krve (1 kapka = 1 mg). Ačkoli bylo hlášeno, že směsi krve a EDTA jsou vhodné pro použití po dobu až 2 týdnů při uchovávání v chladničce.[2] Nátěry by měly být připraveny do 24 hodin z krve odebrané do šťavelanu.[5] Při použití vzorků od novorozenců se doporučuje zředit krev 0,85% fyziologickým roztokem, protože tyto vzorky mají vysoký obsah HbF. Krevní nátěry nejsou stabilní a musí být testovány ihned po přípravě.

Poznámky

Pro účely kontroly kvality se doporučuje, aby byla do každé série testů zahrnuta krev normálního dospělého (HbA) a novorozence nebo kojence (HbF). Barr a Shafer[6] hlásí, že fixní pozitivní kontrolní sklíčka z pupečníkové krve v EDTA lze uchovávat v uzavřené kartonové krabici až 1 rok při teplotě -20 °C. Negativní kontroly EDTA se však po skladování po dobu delší než 2 měsíce při teplotě -20 °C zcela neleují. Tito výzkumníci navrhují přípravu pozitivních a negativních nátěrů na stejném podložním sklíčku, čímž se zajistí jasné a rychlé kontrasty jako reference při čtení testovacích podložních sklíček.

Normální rozsahy[7]

Věk	Fetální hemoglobin (%)
Při narození	50–90
< 2 roky	0–4
> 2 roky	0–2

Postup

1. Citrátový fosfátový pufr by měl být zahřátý v Coplinově nádobě nebo misce na barvení na 37 °C.
2. Pomocí čistých, označených mikroskopických podložních sklíček vytvořte tenké krevní nátěry. Připravte KONTROLNÍ sklíčka s použitím pozitivní HbF krve (pupečníkové krve) a normální dospělé krve. Vysušte na vzduchu po dobu přibližně 10 minut.
3. Zafixujte sklíčka ponořením do ethanolového fixačního prostředku na dobu 5 minut, důkladně opláchněte vodou z vodovodu a vysušte na vzduchu.
4. ZKUŠEBNÍ a KONTROLNÍ sklíčka ponořte do předehřátého roztoku citrátového fosfátového pufru při teplotě 37 °C na dobu 5 minut. Po 1 a 3 minutách od ponoření protřepejte. Míra protřepání se může lišit, aby bylo dosaženo co nejlepších výsledků. Důkladně opláchněte destilovanou vodou a **zcela** vysušte na vzduchu, aby nedošlo k obarvení artefaktů.
5. Barvěte sklíčka po dobu 3 minut v roztoku kyselého hematoxylinu. Důkladně sklíčka opláchněte destilovanou vodou a setřepejte přebytečnou vodu.
6. Kontrastně barvěte sklíčka po dobu 4 minut v 0,1% roztoku eosinu B. Důkladně opláchněte destilovanou vodou a vysušte na vzduchu.
7. Položte **suché** krycí sklíčko na podložní sklíčko a prohlédněte je pomocí olejové imerze (1000X). Nepřítomnost HbF je patrná z přítomnosti stínových buněk – ghost cells – zatímco v případě výskytu HbF vypadají buňky jasně červeně **Nenanášejte** olej přímo na podložní sklíčko. (**Poznámka**: Lze použít zvětšení 400X, ale spočítat výsledné větší pole může být obtížnější.)

Pracovní charakteristiky

Podíl erytrocytů obsahujících fetální hemoglobin lze odhadnout několika způsoby. Při studiu důkazů buněk obsahujících HbF v krvi matek Oski a Naiman[3] doporučili následující:

1. Spočítat celkový počet erytrocytů v 5 polích a určit průměrný počet na jedno pole.
2. Spočítat počet hluboce obarvených erytrocytů obsahujících HbF asi ve 30 polích a určit průměrný počet na jedno pole.
3. Vypočítat procento erytrocytů s HbF na základě celkového počtu erytrocytů na jedno pole.

Výsledky jsou uváděny jako procento přítomného HbF.

Podle Oskiho a Naimana[3] je tato metoda schopna detekovat už 0,1 ml fetální krve v krevním oběhu matky.

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, specifičnost a opakovatelnost.

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
2851	Koncentrát citrátového fosfátového pufru	Fetální hemoglobin	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
2852	Roztok kyselého hematoxylinu	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
2853	Roztok eosinu B	Fetální hemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

H350 Může způsobit rakovinu.

P201 Před použitím si přečtěte zvláštní návod.

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

P264 Po manipulaci si důkladně omyjte pokožku.

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

P280 Používejte ochranu očí/obličeje.

P305 + P351 + P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

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

P337 + P313 Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc.

P405 Skladujte uzamčené.

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

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

Definice symbolů

Symboly definované v normě EN ISO 15223-1:2021

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

Reference

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktní informace

Chcete-li podat objednávku, navštivte naše webové stránky na SigmaAldrich.com. Technický servis naleznete na stránkách technického servisu na naší webové stránce SigmaAldrich.com/techservice.

Historie revizí

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Aktualizované reference na literaturu. Přidána tabulka historie revizí. Přidána varování a rizika. Přidány informace o zastoupení ve Švýcarsku.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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 jejích přidružených společností. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků. Podrobné informace o ochranných známkách jsou k dispozici prostřednictvím veřejně přístupných zdrojů.

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

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

Bruksanvisning

Føtalt hemoglobin-sett

Prosedyre nr. 285

IVD CE

Tiltenkt bruk

Fosterhemoglobinreagenser er beregnet på bruk som en generell laboratoriehistokjemisk farging for syreelueringsbestemmelse av føtalt hemoglobin i blodutstryk. Føtalt hemoglobin-fargingsreagenser er til «*in vitro*-diagnostisk bruk». Kun for profesjonell bruk. Denne manuelle, semikvantitative prosedyren påviser føtalt hemoglobin i erytrocytter fra humane blodutstrykksprøver.

Fremskritt innen teknikker for proteinisolering og karakterisering førte til oppdagelsen av at det er flere kjennetegn som gjør det mulig å skjelne mellom føtalt og voksent hemoglobin. Blant disse er resistensen til føtalt hemoglobin (hemoglobin F) mot syreeluering. Når blodutstryk f.eks. nedsenkes i syrebuffer, elueres voksent hemoglobin fra erytrocyttene, mens føtalt hemoglobin ikke gjør det. Hvis blodutstryk behandles på denne måten og deretter farges, vil erytrocytter som har hemoglobin F, ta opp fargingen, mens de som bare inneholder voksent hemoglobin, vises som «spøkelser».

Objektglassteknikken for å vise det føtale hemoglobinets resistens mot syreeluering ble opprinnelig foreslått av Kleihauer et al.[1] og senere modifisert av Shepard et al.[2] Sigma som ble produsert, representerer en ytterligere forbedring i denne tilnærmingen, som beskrevet av Oski og Naiman.[3]

Det blir stadig mer vanlig i tilfeller med Rh-inkompatibilitet å undertrykke immunreaksjoner på røde blodlegemer som kommer inn i den maternale sirkulasjonen fra fosteret. Mengden spesifikt gammaglobulin, som inneholder anti-Rh(D) som skal administreres, beregnes ved å vurdere omfanget av føtal-maternal blødning.[4]

I henhold til beskrevet teknikk blir blodutstryk, som er riktig tørket og fiksert, nedsenket i en sitratbuffer med pH 3,3 ved 37 °C. Hemoglobin A hos voksne (HbA) oppløses ut av cellene, mens føtalt hemoglobin (HbF) som er syrebestandig, forblir i cellene og kan farges for mikroskopisk undersøkelse.

Reagenser

Sitratfosfatbufferkonsentrat (kat.nr. 2851)
Natriumsitrat, 0,7 mol/l, og natriumfosfat, 0,6 mol/l, kloroform tilsatt som konserveringsmiddel

Syrehematoksylinløsning (kat.nr. 2852)
Hematoksylin, sertifisert, 1 g/l, C.I. 75290, aluminiumammoniumsulfat, natriumjodater og stabiliseringsmidler, pH 3,3

Eosin B-løsning (kat.nr. 2853)
Eosin B, 0,1 %, vannholdig løsning, C.I. 45400. Natriumazid, 0,1 %, tilsatt som konserveringsmiddel

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- mikroskop
- mikroskopobjektglass, dekkglass
- fargestativ/Coplin-beholdere
- vannbad, 37 °C
- etanolfiksativ (kat.nr. 2858) 80 % volum/volum etylalkohol

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar sitratfosfatbufferkonsentrat i kjøleskap (2–8 °C). Kast ved tegn på mikrobiell vekst.

Oppbevar sitratfosfatbufferløsning i kjøleskap (2–8 °C). Stabil i 2 uker. Bruk en fersk alikvot hver dag. Kast ved tegn på mikrobiell vekst.

Oppbevar syrehematoksylinløsning og eosin B-løsning i romtemperatur (18–26 °C). Løsninger kan brukes på nytt hvis de oppbevares i tett lukkede fargingsbeholdere i dempet lys.

Etanolfiksativ skal oppbevares i romtemperatur. Oppbevares tett lukket og som brennbar væske. Løsningen kan brukes på nytt, men skal kastes ved utilstrekkelig fiksering.

Forringelse

Kast syrehematoksylinløsningen når mer enn 8 minutter kreves for egnet farging.

Klargjøring

Sitratfosfatbufferløsning fremstilles ved å fortynne 1 volum sitratfosfatbufferkonsentrat med 9 volum vann.

Syrehematoksylinløsningen, eosin B-løsningen og etanolfiksativet er klare til bruk.

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

Alle prøvene må være tydelig merket. Egnede instrumenter må brukes til å samle inn og klargjøre prøver. Følg bruksanvisningen fra produsenten.

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.

Enten kapillært eller venøst blod kan brukes. Kapillærblod kan overføres direkte til et rent objektglass. Venøst blod skal tilsettes i et rør som inneholder EDTA eller oksalat. For enkelhets skyld brukes 1–2 dråper 2 % EDTA-løsning (kat.nr. 2854) per ml blod (1 dråpe = 1 mg). Selv om blod-EDTA-blandinger er rapportert å være tilfredsstillende for bruk i opptil 2 uker i kjøleskap.[2] Utstryk bør fremstilles innen 24 timer fra blod samlet inn i oksalat.[5] Ved bruk av prøver fra nyfødte anbefales det at blodet fortynnes med 0,85 % saltvann, siden slike prøver har et høyt innhold av HbF. Blodutstryk er ikke stabile og må testes umiddelbart etter fremstilling.

Merknader

For kvalitetskontrollformål anbefales det at blod fra en normal voksen (HbA) og fra en nyfødt eller et spedbarn (HbF) inkluderes i hver testserie. Barr og Shafer[6] rapporterer at fiksserte positive kontrollobjektglass fra navlestrengsblod i EDTA kan bevares i opptil 1 år ved −20 °C, i en forseglet pappeske. EDTA-negative kontroller kan imidlertid ikke elueres helt etter å ha vært lagret i mer enn 2 måneder ved −20 °C. Disse forskerne foreslår å lage positive og negative utstryk på samme objektglass, noe som gir raske og tydelige kontraster som referanse ved lesing av testobjektglass.

Normale områder[7]

Alder	Føtalt hemoglobin (%)
Ved fødselen	50–90
< 2 år	0–4
> 2 år	0–2

Prosedyre

1. Sitratfosfatbufferløsning skal varmes opp til 37 °C i en Coplin-beholder eller fargingsskål.
2. Bruk rene, merkede objektglass til å lage tynne blodutstryk. Fremstill KONTROLL-objektglass ved å bruke positivt HbF-blod (navlestrengblod) og normalt blod fra voksne. Lufttørk i omtrent 10 minutter.
3. Fikser objektglassene ved å senke dem ned i etanolfikseringsmiddel i 5 minutter, skylle grundig med vann fra springen og lufttørke.
4. Senk TEST- og KONTROLL-objektglass ned i forvarmet sitratfosfatbufferløsning ved 37 °C i 5 minutter. Rist etter 1 og 3 minutters nedsenking. Graden av risting kan varieres for å oppnå de mest ønskelige resultatene. Skyll grundig med destillert vann og lufttørk **helt** for å unngå fargingsartefakter.
5. Farg objektglassene i 3 minutter i syrehematoksylinløsning. Skyll objektglassene grundig med destillert vann og rist av overflødig vann.
6. Kontrastfarg objektglass i 4 minutter i 0,1 % eosin B-løsning. Skyll grundig med destillert vann og lufttørk.
7. Plasser **tørt** dekkglass på objektglasset og undersøk ved bruk av oljenedsenking (1000X). Fraværet av HbF er tydelig ved tilstedeværelsen av spøkelsesceller, mens bevart HbF får celler til å se knallrøde ut. Påfør **ikke** olje direkte på objektglasset. (**Merk**: 400X forstørrelse kan brukes, men det resulterende større feltet kan være vanskeligere å telle.)

Ytelsesegenskaper

Andelen erytrocytter som inneholder føtalt hemoglobin, kan estimeres på flere måter. Når de undersøkte holdepunkter for HbF-holdige celler i maternalt blod, anbefalte Oski og Naiman[3] følgende:

1. Tell totalt antall erytrocytter i 5 felt og bestem gjennomsnittlig antall per felt.
2. Tell antallet dypt fargede HbF-holdige erytrocytter i omtrent 30 felt og bestem gjennomsnittlig antall per felt.
3. Beregn prosentandelen av HbF-erytrocytter på grunnlag av det totale antallet erytrocytter per felt.

Resultatene rapporteres som forekomsten av HbF i prosent.

Ifølge Oski og Naiman[3] er denne metoden i stand til å oppdage så lite som 0,1 ml føtalt blod i den maternale sirkulasjonen.

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
2851	Sitratfosfatbuffer-konsentrat	Føtalt hemoglobin	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2852	Syrehematoksylin-løsning	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
2853	Eosin B-løsning	Føtalt hemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Gir alvorlig øyeirritasjon.

H350 Kan forårsake kreft.

P201 Innhent særskilt instruks før bruk.

P202 Skal ikke håndteres før alle advarsler er lest og oppfattet.

P264 Vask huden grundig etter bruk.

P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

P280 Benytt øyevern/ansiktsvern.

P305 + P351 + P338 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.

P308 + P313 Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

P337 + P313 Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.

P405 Oppbevares innelåst.

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	REF	Katalognummer
	Se bruksanvisning	LOT	Batchkode
EC REP	Autorisert representant i Det europeiske fellesskap / EU	CE	EU-samsvarserklæring (definert i IVDR 2017/746)
	Best før-dato	IVD	*In vitro*-diagnostisk medisinsk utstyr
	Temperaturgrense		Forsiktighetsregel
	Produksjonsdato		Importør
CH REP	Angir den autoriserte representanten i Sveits		

Referanser

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktinformasjon

Bestillinger kan legges inn via nettstedet vårt på SigmaAldrich.com. Besøk siden for tekniske tjenester på nettstedet vårt på SigmaAldrich.com/techservice for teknisk service.

Revisjonshistorikk

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Oppdaterte litteraturreferanser. La til en tabell med revisjonshistorikk. La til advarsler og farer. La til CH-REP-informasjon.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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.

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

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

Rev. 7.0, 91748-LS, 2025

Kullanım Talimatları

Fetal Hemoglobin Kiti

Prosedür No. 285

IVD CE

Kullanım Amacı

Fetal Hemoglobin reaktifleri, kan smear'larındaki fetal hemoglobinin asit elüsyonuyla belirlenmesi için genel laboratuvar histokimyasal boyası olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Fetal Hemoglobin boya reaktifleri "*İn Vitro* Tanı Amaçlı Kullanıma" yöneliktir. Yalnızca profesyonel kullanım içindir. Bu manuel, yarı kantitatif prosedür, insan kan smear numunelerinin eritrositlerinde fetal hemoglobini saptar.

Protein izolasyonu ve karakterizasyonuna yönelik tekniklerdeki gelişmeler, fetal hemoglobini yetişkin hemoglobininden ayırt etmeyi mümkün kılan birkaç ayırt edici özelliğin keşfedilmesine yol açmıştır. Fetal hemoglobinin (hemoglobin F) asit elüsyonuna karşı direnci de bunlar arasındadır. Örneğin kan smear'ları asit tamponuna daldırıldığında yetişkin hemoglobini eritrositlerden ayrıştırılırken fetal hemoglobin ayrıştırılmaz. Kan smear'ları bu şekilde işlenir ve boyanırsa hemoglobin F'ye sahip eritrositler boyayı tutarken sadece yetişkin hemoglobini içerenler "hayalet" olarak görünür.

Asit elüsyonuna direnci açısından fetal hemoglobinin gösterilmesine yönelik lam tekniği ilk olarak Kleihauer ve ark.[1] tarafından önerilmiş ve daha sonra Shepard ve ark.[2] tarafından değiştirilmiştir. Üretilen Sigma, Oski ve Naiman[3] tarafından tanımlandığı şekilde bu yaklaşımda gelişme olduğunu göstermektedir.

Rh uyuşmazlığı vakalarında, fetüsten maternal dolaşıma giren kırmızı kan hücrelerine karşı immün reaksiyonlarını baskılamak giderek yaygınlaşmaktadır. Uygulanacak anti Rh(D) içeren spesifik gama globulin miktarı, fetal-maternal kanamanın büyüklüğü değerlendirilerek hesaplanır.[4]

Tarif edilen tekniğe göre, uygun şekilde kurutulmuş ve fikse edilmiş kan smear'ları 37°C'de pH 3,3 sitrat tamponuna batırılır. Yetişkin hemoglobin A (HbA) hücrelerden çözünürken aside dirençli olan fetal hemoglobin (HbF) hücre içinde kalır ve mikroskobik inceleme için boyanabilir.

Reaktifler

Sitrat Fosfat Tampon Konsantresi (Kat. No. 2851)
Sodyum sitrat, 0,7 mol/L ve sodyum fosfat, 0,6 mol/L, koruyucu olarak kloroform eklenir

Asit Hematoksilin Çözeltisi (Kat. No. 2852)
Hematoksilin, sertifikalı, 1 g/L, C.I. 75290, alüminyum amonyum sülfat, sodyum iyodatlar ve stabilizatörler, pH 3,3

Eosin B Çözeltisi (Kat. No. 2853)
Eosin B, %0,1, sulu çözelti, C.I. 45400. Sodyum azit, %0,1, koruyucu olarak eklenir

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Mikroskop
- Mikroskop lamları, lamelleri
- Boyama rafı/Coplin kavanozları
- Su banyosu, 37°C
- Etanol Fiksatif (Kat. No. 2858) %80 h/h etil alkol

Saklama ve Stabilite

Sitrat Fosfat Tampon Konsantresini buzdolabında (2-8°C) saklayın. Mikrobiyal büyüme belirginse atın.

Sitrat Fosfat Tampon Çözeltisini buzdolabında (2-8°C) saklayın. 2 hafta boyunca stabildir. Her gün yeni bir alikot kullanın. Mikrobiyal büyüme belirginse atın.

Asit Hematoksilin Çözeltisi ve Eosin B Çözeltisini oda sıcaklığında (18-26°C) saklayın. Çözeltiler, loş ışıkta ağzı sıkıca kapalı boyama kavanozlarında saklanırsa yeniden kullanılabilir.

Etanol Fiksatif oda sıcaklığında saklanmalıdır. Ağzı sıkıca kapalı ve yanıcı bir sıvı olarak saklayın. Çözelti yeniden kullanılabilir ancak fiksasyon yeterli değilse atılmalıdır.

Bozulma

Uygun boyama için gereken süre 8 dakikayı geçerse Asit Hematoksilin Çözeltisini atın.

Hazırlama

Sitrat Fosfat Tampon Çözeltisi, 1 ölçü Sitrat Fosfat Tampon Konsantresini 9 ölçü su ile seyrelterek hazırlanır.

Asit Hematoksilin Çözeltisi, Eosin B Çözeltisi ve Etanol Fiksatif kullanıma hazırdır.

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

Tüm numuneler net bir şekilde etiketlenmelidir. Numune almak ve hazırlamak için uygun aletler kullanılmalıdır. Üreticinin kullanım talimatlarını izleyin.

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.

Kapiler veya venöz kan kullanılabilir. Kapiler kan doğrudan temiz bir mikroskop lamına aktarılabilir. EDTA veya oksalat içeren bir tüpe venöz kan eklenmelidir. Kolaylık açısından her bir mL kan için 1-2 damla %2 EDTA Çözeltisi (Kat. No. 2854) kullanın (1 damla = 1 mg). Kan-EDTA karışımlarının buzdolabında 2 haftaya kadar kullanılabileceği bildirilmiş olsa da[2] kanın oksalat içinde toplanmasından 24 saat önce smear hazırlanmalıdır.[5] Yenidoğandan alınan örnekler kullanılacaksa bu tür örnekler yüksek oranda HbF içerdiğinden kanın %0,85 salin ile seyreltilmesi önerilir. Kan smear'ları stabil değildir ve hazırlandıktan hemen sonra test edilmelidir.

Notlar

Kalite kontrol amacıyla her bir test serisine normal bir yetişkinden (HbA) ve yeni doğmuş bir bebekten (HbF) alınan kanların dahil edilmesi önerilir. Barr ve Shafer[6], EDTA'lı kordon kanından alınan sabit pozitif kontrol lamlarının kapalı bir karton kutuda -20°C'de 1 yıla kadar korunabileceğini bildirmiştir. Ancak EDTA negatif kontroller, -20°C'de 2 aydan uzun süre saklandıktan sonra tamamen ayrışmaz. Araştırmacılar, pozitif ve negatif smear'ların aynı lam üzerinde hazırlanmasını ve böylece test lamlarının okunmasında referans olarak net ve hızlı kontrastlar sağlanmasını önermektedir.

Normal Aralıklar[7]

Yaş	Fetal Hemoglobin (%)
Doğumda	50-90
<2 yaş	0-4
>2 yaş	0-2

Prosedür

1. Sitrat Fosfat Tampon Çözeltisi, bir Coplin kavanozu veya boyama kabı içinde 37°C'ye ısıtılmalıdır.
2. Temiz ve etiketli mikroskop lamları kullanarak ince kan smear'ları oluşturun. Pozitif HbF kanı (kordon kanı) ve normal yetişkin kanı kullanarak KONTROL lamlarını hazırlayın. Yaklaşık 10 dakika kurumaya bırakın.
3. Etanol Fiksatife 5 dakika daldırarak lamlara fiksasyon uygulayın, musluk suyuyla iyice durulayın ve kurumaya bırakın.
4. TEST ve KONTROL lamlarını 37°C'de önceden ısıtılmış Sitrat Fosfat Tampon Çözeltisinde 5 dakika boyunca bekletin. 1 ve 3 dakika boyunca daldırdıktan sonra çalkalayın. Çalkalama seviyesi, arzu edilen sonuçlara ulaşmak için değiştirilebilir. Boyama artefaktlarını önlemek için distile suyla iyice durulayın ve **tamamen** kurumaya bırakın.
5. Lamlara Asit Hematoksilin Çözeltisinde 3 dakika boyama yapın. Lamları distile suda iyice durulayın ve fazla suyu giderin.
6. Lamlara %0,1 Eosin B Çözeltisinde 4 dakika boyunca zıt boyama yapın. Distile suda iyice durulayın ve kurumaya bırakın.
7. Lam üzerine **kuru** lameli yerleştirin ve yağa batırarak inceleyin (1000X). HbF'nin yokluğu, hayalet hücrelerin varlığından anlaşılırken tutulan HbF, hücrelerin parlak kırmızı görünmesine neden olur. Lama doğrudan yağ **uygulamayın**. (**Not**: 400X büyütme kullanılabilir ancak ortaya çıkan daha büyük alanda sayım gerçekleştirmek daha zor olabilir.)

Performans Özellikleri

Fetal hemoglobin içeren eritrositlerin oranı çeşitli şekillerde tahmin edilebilir. HbF içeren hücrelerin maternal kandaki kanıtlarını incelerken Oski ve Naiman[3] aşağıdakileri tavsiye etmektedir:

1. 5 alandaki toplam eritrosit sayısını hesaplayın ve alan başına ortalama sayıyı belirleyin.
2. Yaklaşık 30 alandaki yoğun bir şekilde boyanmış HbF içeren eritrositleri sayın ve alan başına ortalama sayıyı belirleyin.
3. Alan başına toplam eritrosit sayısını baz alarak HbF eritrosit yüzdesini hesaplayın.

Sonuçlar, mevcut HbF yüzdesi olarak rapor edilir.

Oski ve Naiman'a[3] göre bu yöntem, maternal dolaşımda 0,1 mL kadar küçük miktarda fetal kanını saptayabilmektedir.

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
2851	Sitrat Fosfat Tampon Konsantresi	Fetal Hemoglobin	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
2852	Asit Hematoksilin Çözeltisi	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
2853	Eosin B Çözeltisi	Fetal Hemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Ciddi göz tahrişine neden olur.

H350 Kansere neden olabilir.

P201 Kullanmadan önce özel kullanma talimatlarını edinin.

P202 Tüm güvenlik önlemleri okunup anlaşılmadan dokunmayın.

P264 Dokunduktan sonra cildinizi iyice yıkayın.

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

P280 Göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.

P305 + P351 + P338 GÖZLE TEMASI HALİNDE Birkaç dakika boyunca dikkatle suyla durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin.

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

P337 + P313 Göz tahrişinin geçmemesi halinde Tıbbi yardım/müdahale alın.

P405 Kilitli halde 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	REF	Katalog Numarası
	Kullanma Talimatına bakın	LOT	Parti Kodu
EC REP	Avrupa Topluluğu'nda/Avrupa Birliği'nde Yetkili Temsilci	CE	Avrupa Birliği Uygunluk Beyanı (IVDR 2017/746'da tanımlanmıştır)
	Son Kullanma Tarihi	IVD	*İn vitro* tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Sıcaklık Sınırı		Dikkat
	Üretim Tarihi		İthalatçı

CH REP İsviçre'deki Yetkili Temsilciyi belirtir

Referanslar

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

İletişim Bilgileri

Sipariş vermek için lütfen SigmaAldrich.com adresinden web sitemizi ziyaret edin. Teknik Servis için lütfen SigmaAldrich.com/techservice adresinden web sitemizin teknik servis sayfasını ziyaret edin.

Revizyon Geçmişi

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Literatür referansları güncellendi. Bir revizyon geçmişi tablosu eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. CH-REP bilgileri eklendi.
Rev. 7.0	2025 SDS bilgileri güncellendi. CH ithalatçı bilgileri eklendi.

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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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 markalarıdır. Diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir. Ticari markalar hakkında ayrıntılı bilgi, herkesin erişebileceği kaynaklar aracılığıyla edinilebilir.

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

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

Sigma-Aldrich®

Käyttöohje

Fetaalihemoglobiinipakkaus

Menetelmänro 285

MERCK

IVD CE

Käyttötarkoitus

Fetaalihemoglobiinireagenssit on tarkoitettu käytettäväksi histokemiallisena väriaineena yleisessä laboratoriokäytössä fetaalihemoglobiinin Kleihauer-Betken määrityksessä veren sivelynäytteistä. Fetaalihemoglobiinivärjäysreagenssit on tarkoitettu "*in vitro* -diagnostiikkaan." Vain ammattilaisten käyttöön. Tämä manuaalinen, semikvantitatiivinen menetelmä tunnistaa ihmisveren sivelynäytteiden erytrosyyteissä olevan fetaalihemoglobiinin.

Proteiinien eristys- ja karakterisointitekniikoiden edistyminen johti havaintoon, että sikiön ja aikuisen hemoglobiinin välillä on useita havaittavissa olevia erottavia ominaisuuksia. Yksi näistä on fetaalihemoglobiinin resistenssi happoeluointia vastaan (Kleihauer-Betken testi). Kun veren sivelynäytteet upotetaan esimerkiksi happopuskuriin, aikuisen hemoglobiini eluoituu erytrosyyteistä mutta fetaalihemoglobiini ei. Jos veren sivelynäytteet käsitellään tällä tavalla ja myöhemmin värjätään, väri jää fetaalihemoglobiinia sisältäviin erytrosyytteihin, kun taas vain aikuisen hemoglobiinia sisältävät erytrosyytit näkyvät varjosoluina.

Objektilasien fetaalihemoglobiinin tunnistusta happueluointiresistenssin avulla ehdottivat tekniikaksi alun perin Kleihauer et al.[1] ja myöhemmin edeltävää mukaillen Shepard et al.[2] Sigman tuotteet parantavat lähestymistapaa Oskin ja Naimanin kuvaamalla tavalla.[3]

Rh-veriryhmien yhteensopimattomuustapauksissa on yhä yleisempää hillitä immuunireaktioita punasoluihin, jotka siirtyvät sikiöstä äidin verenkiertoon. Annettavaa anti-Rh(D):tä sisältävän spesifisen gammaglobuliinin määrä lasketaan arvioimalla fetomaternaalivuodon suuruus.[4]

Kuvatun tekniikan mukaan veren sivelynäytteet, jotka on asianmukaisesti kuivattu ja kiinnitetty, upotetaan sitraattipuskuriin, jonka pH on 3,3 lämpötilan ollessa 37 °C. Aikuisen hemoglobiini A (HbA) liukenee pois soluista, kun taas haponkestävä fetaalihemoglobiini (HbF) säilyy solussa ja voidaan värjätä mikroskooppitutkimusta varten.

Reagenssit

Sitraattifosfaattipuskurikonsentraatti (luettelonro 2851)
Natriumsitraatti, 0,7 mol/l, ja natriumfosfaatti, 0,6 mol/l, säilöntäaineeksi lisätty kloroformi

Hapan hematoksyliiniliuos (luettelonro 2852)

Hematoksyliini, sertifioitu, 1 g/l, väri-indeksi 75290, alumiiniammoniumsulfaatti, natriumjodaatit ja stabilointiaineet, pH 3,3

Eosiini B -liuos (luettelonro 2853)
Eosiini B, 0,1 %, vesiliuos, väri-indeksi 45400. Natriumatsidi, 0,1 %, lisätty säilöntäaineeksi

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Mikroskooppi
- Objektilaseja, peitinlaseja
- Värjäysteline/Coplin-astioita
- Vesihaude, 37 °C
- Etanolifiksatiivi (luettelonro 2858), 80-prosenttinen (v/v) etyylialkoholi

Säilytys ja stabiilius

Säilytä sitraattifosfaattipuskurikonsentraatti jääkaapissa (2–8 °C). Hävitä, jos siinä on merkkejä mikrobikasvusta.

Säilytä sitraattifosfaattipuskuriliuos jääkaapissa (2–8 °C). Stabiili kahden viikon ajan. Käytä joka päivä tuoretta alikvoottia. Hävitä, jos siinä on merkkejä mikrobikasvusta.

Säilytä hapan hematoksyliiniliuos ja eosiini B -liuos huoneenlämmössä (18–26 °C). Liuoksia voidaan käyttää uudelleen, jos niitä säilytetään tiiviisti suljetuissa värjäysastioissa himmeässä valossa.

Etanolifiksatiivi on säilytettävä huoneenlämmössä. Säilytä tiiviisti suljettuna ja syttyviä nesteitä koskevien ohjeistusten mukaisesti. Liuosta voidaan käyttää uudelleen, mutta se on hävitettävä, jos kiinnitys ei ole riittävä.

Pilaantuminen

Hävitä hapan hematoksyliiniliuos, kun soveltuvaan värjäykseen kuluva aika ylittää kahdeksan minuuttia.

Valmistelu

Sitraattifosfaattipuskuriliuos valmistetaan laimentamalla 1 tilavuusosa sitraattifosfaattipuskurikonsentraattia 9 tilavuusosalla vettä.

Hapan hematoksyliiniliuos, eosiini B -liuos ja etanolifiksatiivi ovat käyttövalmiita.

Varotoimet

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

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

Menettely

Näytteenotto

Kaikki näytteet on merkittävä selkeästi. Näytteiden ottamiseen ja valmisteluun on käytettävä sopivia välineitä. Noudata valmistajan antamia käyttöohjeita.

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

Menettelyssä voidaan käyttää joko kapillaari- tai laskimoverta. Kapillaariveri voidaan siirtää suoraan puhtaaseen objektilasiin. Laskimoveri on lisättävä EDTA:ta tai oksalaattia sisältävään putkeen. Ohjeena voidaan käyttää 1–2 tippaa 2-prosenttista EDTA-liuosta (luettelonro 2854) per millilitra verta (1 tippa = 1 mg). Vaikka veren ja EDTA:n seosten on raportoitu olevan käyttökelpoisia jopa kahden viikon ajan jääkaapissa säilytettyinä[2], sivelynäytteet tulee valmistella 24 tunnin kuluessa veren keräämisestä oksalaattiin.[5] Vastasyntyneiden näytteitä käytettäessä veri on suositeltavaa laimentaa 0,85-prosenttisella keittosuolaliuoksella, sillä tällaisissa näytteissä on suuri HbF-pitoisuus. Veren sivelynäytteet eivät ole stabiileja, ja ne on testattava välittömästi valmistelun jälkeen.

Huomautukset

Laadunvalvontaa varten suositellaan, että jokaiseen testisarjaan sisällytetään normaalin aikuisen (HbA) ja vastasyntyneen tai imeväisikäisen (HbF) verta. Barr ja Shafer[6] raportoivat, että EDTA:han kerätystä napaverestä valmistettuja kiinnitettyjä positiivisia kontrolliobjektilaseja voidaan säilyttää enintään yhden vuoden ajan –20 °C:ssa suljetussa pahvilaatikossa. EDTA-negatiiviset kontrollit eivät kuitenkaan eluoidu täysin, kun niitä on säilytetty yli kahden kuukauden ajan –20 °C:ssa. Tutkimuksen tutkijat ehdottavat positiivisten ja negatiivisten sivelynäytteiden valmistamista samalle objektilasille, jolloin saadaan selkeät ja nopeat kontrastit viitteeksi testiobjektilasien lukemiseen.

Normaalialueet[7]

Ikä	Fetaalihemoglobiini (%)
Syntymähetkellä	50–90
< 2 vuotta	0–4
> 2 vuotta	0–2

Menettely

1. Sitraattifosfaattipuskuriliuos on lämmitettävä 37 °C:n lämpötilaan Coplin-astiassa tai värjäysmaljassa.
2. Tee ohuita veren sivelynäytteitä puhtaille ja merkityille objektilaseille. Valmistele KONTROLLIobjektilasit käyttämällä positiivista HbF-verta (napaveri) ja normaalia aikuisen verta. Anna kuivua noin 10 minuuttia.
3. Kiinnitä objektilasit upottamalla ne etanolifiksatiiviin viideksi minuutiksi, huuhtele huolellisesti vesijohtovedellä ja anna kuivua.
4. Upota TESTI- ja KONTROLLIobjektilasit esilämmitettyyn 37-asteiseen sitraattifosfaattipuskuriliuokseen viiden minuutin ajaksi. Ravista, kun upotuksesta on mennyt yksi minuutti, ja uudelleen kolmen minuutin kohdalla. Ravistusastetta voi vaihdella toivottujen tulosten saavuttamiseksi. Huuhtele huolellisesti tislatulla vedellä ja anna kuivua **kokonaan** värjäysartefaktien välttämiseksi.
5. Värjää objektilaseja kolmen minuutin ajan happamassa hematoksyliiniliuoksessa. Huuhtele objektilasit huolellisesti tislatulla vedellä ja ravista ylimääräinen vesi pois.
6. Vastaväriä objektilaseja neljän minuutin ajan 0,1-prosenttisessa eosiini B -liuoksessa. Huuhtele huolellisesti tislatulla vedellä ja anna kuivua.
7. Aseta **kuiva** peitinlasi objektilasin päälle ja tutki öljyimmersion avulla (1000X). HbF:n puuttuminen näkyy varjosoluina, kun taas HbF:ää sisältävät solut näkyvät kirkkaanpunaisina. **Älä** levitä öljyä suoraan objektilasille. (**Huomautus**: 400-kertaista suurennusta voidaan käyttää, mutta siitä seuraavaa suurempaa kenttää voi olla vaikeampi laskea.)

Suorituskykyominaisuudet

Fetaalihemoglobiinia sisältävien erytrosyyttien osuus voidaan arvioida useilla tavoilla. Tutkiessaan äidin veressä havaittavia merkkejä HbF:ää sisältävistä soluista Oski ja Naiman[3] suosittelivat seuraavaa:

1. Laske erytrosyyttien kokonaismäärä viidessä kentässä ja määritä keskimääräinen määrä kenttää kohden.
2. Laske voimakkaasti värjäytyneiden, HbF:ää sisältävien erytrosyyttien määrä noin 30 kentässä ja määritä keskimääräinen määrä kenttää kohden.
3. Laske HbF:ää sisältävien erytrosyyttien prosentuaalinen osuus erytrosyyttien kenttäkohtaisen kokonaismäärän perusteella.

Tulokset raportoidaan HbF:n esiintymisen prosentuaalisena osuutena.

Oskin ja Naimanin[3] mukaan tällä menetelmällä pystytään havaitsemaan jopa 0,1 ml sikiön verta äidin verenkierrossa.

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

Analyyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Luettelo-nro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määri-tyksen sisäinen spesifisyys	Määri-tyksen sisäinen herkkyys	Määritysten välinen spesifisyys	Määritysten välinen herkkyys
2851	Sitraattifosfaat-tipuskurikon-sentraatti	Fetaalihe-moglobiini	3/3	3/3	3/3	3/3
2852	Hapan hema-toksyliiniliuos	Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3
2853	Eosiini B -liuos	Fetaalihe-moglobiini	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

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

285C, 285D:

H319 Ärsyttää voimakkaasti silmiä.

H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.

P201 Lue erityisohjeet ennen käyttöä.

P202 Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä.

P264 Pese iho huolellisesti käsittelyn jälkeen.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

P280 Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta.

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

P308 + P313 Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: hakeudu lääkäriin.

P308 + P313 Jos silmä-ärsytys jatkuu, hakeudu lääkäriin.

P405 Varastoi lukitussa tilassa.

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	REF	Luettelonumero
	Katso käyttöohje	LOT	Eräkoodi
EC REP	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa	CE	Vaatimustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä	IVD	*In vitro* -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
CH REP	Osoittaa valtuutetun edustajan Sveitsissä		

Lähteet

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuillamme osoitteessa SigmaAldrich.com. Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa SigmaAldrich.com/techservice.

Versiohistoria

Versio 4.0	2014
Versio 5.0	2016
Versio 6.0	2023 Siirretty uuteen pohjaan, jossa on ajantasaiset brändimerkit. Maininta ammattikäytöstä lisätty käyttötarkoitukseen ja varotoimiin. Käyttötarkoitus tarkistettu IVDR-ohjeistusten mukaisesti. ”Materiaalin käyttöturvallisuustiedote” päivitetty muotoon ”käyttöturvallisuustiedote”. Yhteystiedot päivitetty. Poistettu ohje CLSI-ohjeistuksen noudattamisesta näytteenotossa. Symboliosiosta poistettu ”EN 980” ja tilalle vaihdettu ”EN ISO 15223-1:2021”. Lisätty haittatapahtumien yhteydessä käytettävät yhteystiedot. Kirjallisuusviitteet päivitetty. Lisätty versiohistoriataulukko. Lisätty kohta Varoitukset ja vaarat. Lisätty CH-REP-tiedot.
Versio 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Gebruiksaanwijzing

Foetaal-hemoglobinekit

Procedurenr. 285

IVD CE

Beoogd gebruik

Foetale-hemoglobinereagentia zijn bedoeld voor gebruik als een algemene histochemische laboratoriumkleuring voor de zuurelutiebepaling van foetaal hemoglobine in bloedsmears. Foetaal-hemoglobinekleuring-reagentia zijn voor '*in-vitro* diagnostisch gebruik'. Uitsluitend voor professioneel gebruik. Deze handmatige, semikwantitatieve procedure detecteert foetaal hemoglobine in erytrocyten in humane bloedsmears.

Vooruitgang in technieken voor het isoleren en karakteriseren van eiwitten leidde tot de ontdekking dat er verschillende onderscheidende eigenschappen zijn die het mogelijk maken om foetaal hemoglobine van volwassen hemoglobine te onderscheiden. Eén daarvan is de weerstand van foetaal hemoglobine (hemoglobine F) tegen zure elutie. Wanneer bloedsmears bijvoorbeeld in een zure buffer worden ondergedompeld, wordt volwassen hemoglobine geëlueerd uit de erytrocyten, terwijl dat niet het geval is bij foetale hemoglobine. Als bloedsmears op deze manier worden behandeld en vervolgens gekleurd, zullen erytrocyten met hemoglobine F de kleuring opnemen, terwijl erytrocyten met alleen volwassen hemoglobine als 'geesten' verschijnen.

De objectglaasjestechniek voor het aantonen van foetaal hemoglobine met betrekking tot de weerstand ervan tegen zure elutie werd oorspronkelijk voorgesteld door Kleihauer e.a.,[1] en later gewijzigd door Shepard e.a.[2] De door Sigma geproduceerde techniek vertegenwoordigt een verdere verbetering van deze aanpak zoals beschreven door Oski en Naiman.[3]

Het wordt in gevallen van Rh-incompatibiliteit steeds gebruikelijker om immuunreacties tegen rode bloedcellen die vanuit de foetus in de maternale circulatie komen, te onderdrukken. De hoeveelheid toe te dienen specifiek gammaglobuline, die anti-Rh(D) bevat, wordt berekend door de omvang van de foetaal-maternale bloeding te beoordelen.[4]

Volgens de beschreven techniek worden bloedsmears, die goed zijn gedroogd en gefixeerd, ondergedompeld in een citraatbuffer met een pH van 3,3 bij 37 °C. Volwassen hemoglobine A (HbA) lost op uit de cellen, terwijl foetaal hemoglobine (HbF), dat zuurbestendig is, intracellulair blijft en gekleurd kan worden voor microscopisch onderzoek.

Reagentia

Citraat-fosfaat-bufferconcentraat (cat. nr. 2851)

Natriumcitraat, 0,7 mol/L, en natriumfosfaat, 0,6 mol/L, chloroform toegevoegd als conserveermiddel

Zure hematoxyline-oplossing (cat. nr. 2852)
Hematoxyline, gecertificeerd, 1 g/L, C.I. 75290, aluminiumammoniumsulfaat, natriumjodaten en stabilisatoren, pH 3,3

Eosine B-oplossing (cat. nr. 2853)

Eosine B, 0,1%, waterige oplossing, C.I. 45400. Natriumazide, 0,1%, toegevoegd als conserveermiddel

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Microscoop
- Microscoopglaasjes, dekglaasjes
- Kleurrek/Coplin-potten
- Waterbad, 37 °C
- Ethanolfixatief (cat. nr. 2858) 80% w/w ethylalcohol

Opslag en stabiliteit

Bewaar citraat-fosfaat-bufferconcentraat in de koelkast (2-8 °C). Gooi weg als er sprake is van microbiële groei.

Bewaar citraat-fosfaat-bufferoplossing in de koelkast (2-8 °C). Stabiel gedurende 2 weken. Gebruik elke dag een nieuwe aliquot. Gooi weg als er sprake is van microbiële groei.

Bewaar zure hematoxyline-oplossing en eosine B-oplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C). Oplossingen kunnen worden hergebruikt als ze in goed afgesloten kleuringspotjes in gedempt licht worden bewaard.

Ethanolfixatief moet bij kamertemperatuur worden bewaard. Goed afgesloten en als ontvlambare vloeistof bewaren. De oplossing kan worden hergebruikt, maar moet worden weggegooid als de fixatie niet afdoende is.

Verslechtering

Gooi de zure hematoxyline-oplossing weg als de tijd die nodig is voor een geschikte kleuring langer is dan 8 minuten.

Voorbereiding

Citraat-fosfaat-bufferoplossing wordt bereid door 1 deel citraat-fosfaat-bufferconcentraat te verdunnen met 9 delen water.

Zure hematoxyline-oplossing, eosine B-oplossing en ethanolfixatief zijn klaar voor gebruik.

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

Alle monsters moeten duidelijk gelabeld zijn. Voor het afnemen en bereiden van monsters moeten geschikte instrumenten worden gebruikt. Volg de gebruiksaanwijzing van de fabrikant.

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

Er kan zowel capillair als veneus bloed worden gebruikt. Capillair bloed kan rechtstreeks op een schoon microscoopglaasje worden overgebracht. Veneus bloed moet worden toegevoegd aan een buisje met EDTA of oxalaat. Gebruik voor het gemak 1-2 druppels 2% EDTA-oplossing (cat. nr. 2854) per mL bloed (1 druppel = 1 mg). Bloed-EDTA-mengsels kunnen in principe tot 2 weken worden gebruikt mits ze in de koelkast worden bewaard.[2] Smears moeten binnen 24 uur worden bereid uit bloed dat in oxalaat is afgenomen.[5] Bij gebruik van monsters van pasgeborenen wordt aanbevolen het bloed te verdunnen met 0,85% zoutoplossing, aangezien dergelijke monsters een hoog gehalte aan HbF hebben. Bloedsmears zijn niet stabiel en moeten onmiddellijk na bereiding getest worden.

Opmerkingen

Voor kwaliteitscontroledoeleinden wordt aanbevolen om in elke testserie bloed van een normale volwassene (HbA) en van een pasgeborene of zuigeling (HbF) op te nemen. Barr en Shafer[6] melden dat gefixeerde positieve controleglaasjes van navelstrengbloed in EDTA tot 1 jaar bewaard kunnen worden bij −20 °C, in een afgesloten kartonnen doos. EDTA-negatieve controles elueren echter niet volledig nadat ze langer dan 2 maanden bij −20 °C zijn opgeslagen. Deze onderzoekers stellen voor om positieve en negatieve smears op hetzelfde glaasje te prepareren, zodat er duidelijke en snelle contrasten ontstaan als referentie bij het aflezen van de testglaasjes.

Normale bereiken[7]

Leeftijd	Foetaal hemoglobine (%)
Bij de geboorte	50-90
< 2 jaar	0-4
> 2 jaar	0-2

Procedure

1. Citraat-fosfaat-bufferoplossing moet worden verwarmd tot 37 °C in een Coplin-potje of kleurschaal.
2. Maak met behulp van schone, gelabelde microscoopglaasjes dunne bloedsmears. Maak CONTROLE-glaasjes met positief HbF-bloed (navelstrengbloed) en normaal volwassen bloed. Laat ongeveer 10 minuten drogen aan de lucht.
3. Fixeer de objectglaasjes door ze 5 minuten onder te dompelen in ethanolfixatief, spoel ze grondig af met kraanwater en laat ze aan de lucht drogen.
4. Dompel TEST- en CONTROLE-objectglaasjes gedurende 5 minuten onder in voorverwarmde citraat-fosfaat-bufferoplossing bij 37 °C. Beweeg de glaasjes na 1 en 3 minuten onderdompeling. De mate van beweging kan gevarieerd worden om de meest gewenste resultaten te bereiken. Spoel grondig met gedestilleerd water en laat **volledig** aan de lucht drogen om kleurartefacten te voorkomen.
5. Kleur de objectglaasjes 3 minuten in zure hematoxylineoplossing. Spoel de objectglaasjes grondig af met gedestilleerd water en schud het overtollige water eraf.
6. Laat de objectglaasjes 4 minuten lang tegenkleuren in 0,1% eosine B-oplossing. Spoel grondig met gedestilleerd water en laat aan de lucht drogen.
7. Plaats een **droog** dekglaasje op het glaasje en onderzoek met olie-immersie (1000X). De afwezigheid van HbF wordt duidelijk door de aanwezigheid van geestcellen, terwijl ingesloten HbF ervoor zorgt dat cellen helderrood worden. Breng **geen** olie rechtstreeks op het objectglaasje aan. (**Opmerking**: de 400X-vergroting kan worden gebruikt, maar het resulterende grotere veld kan moeilijker te tellen zijn.)

Prestatiekenmerken

Het deel erytrocyten met foetaal hemoglobine kan op verschillende manieren worden geschat. Bij het bestuderen van maternaal bloed dat bewijs levert van HbF-bevattende cellen, adviseerden Oski en Naiman[3] het volgende:

1. Tel het totale aantal erytrocyten in 5 velden en bepaal het gemiddelde aantal per veld.
2. Tel het totale aantal diep gekleurde HbF-bevattende erytrocyten in ongeveer 30 velden en bepaal het gemiddelde aantal per veld.
3. Bereken het percentage HbF-erytrocyten op basis van het totale aantal erytrocyten per veld.

Resultaten worden gerapporteerd als het percentage aanwezig HbF.

Volgens Oski en Naiman[3] kan met deze methode slechts 0,1 mL foetaal bloed in de maternale circulatie al worden gedetecteerd.

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

Analytische prestatiekenmerken

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

Cat. nr.	Productbeschrijving	Doel	Intra-assay specificiteit	Intra-assay gevoeligheid	Inter-assay specificiteit	Inter-assay gevoeligheid
2851	Citraat-fosfaat-bufferconcentraat	Foetaal hemoglobine	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
2852	Zure-hematoxyline-oplossing	Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
2853	Eosine B-oplossing	Foetaal hemoglobine	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.

285C, 285D:

H319 Veroorzaakt ernstige oogirritatie.

H350 Kan kanker veroorzaken.

P201 Alvorens te gebruiken, de speciale aanwijzingen raadplegen.

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

P264 Na het werken met dit product de huid grondig wassen.

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

P280 Draag oogbescherming/gezichtsbescherming.

P305 + P351 + P338 BIJ CONTACT MET DE OGEN Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en indien mogelijk. Blijven spoelen.

P308 + P313 BIJ blootstelling of ongerustheid Vraag medisch advies/medische hulp.

P337 + P313 Als de oogirritatie aanhoudt Vraag medisch advies/medische hulp.

P405 Achter slot 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	REF	Catalogusnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	LOT	Batchcode
EC REP	Gemachtigd vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie	CE	Conformiteitsverklaring van de Europese Unie (gedefinieerd in IVDR 2017/746)
	Uiterste gebruiksdatum	IVD	Medisch hulpmiddel voor *in-vitrodiagnostiek*
	Temperatuurlimiet		Let op
	Fabricagedatum		Importeur
CH REP	Geeft de geautoriseerde vertegenwoordiger in Zwitserland aan		

Referenties

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Contactgegevens

Bezoek onze website op SigmaAldrich.com om een bestelling te plaatsen. Ga voor technische service naar de technische servicepagina op onze website SigmaAldrich.com/techservice.

Herzieningsgeschiedenis

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Bijgewerkte literatuurreferenties. Een tabel met de herzieningsgeschiedenis toegevoegd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP-informatie toegevoegd.
Rev. 7.0	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

EC REP MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP 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.

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

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

Navodila za uporabo

Komplet za hemoglobin ploda

Postopek št. 285

IVD CE

Predvidena uporaba

Reagenti za hemoglobin ploda so namenjeni uporabi kot splošno laboratorijsko histokemično barvilo za določanje hemoglobina ploda s kislinsko elucijo v krvnih razmazih. Reagenti za barvanje hemoglobina ploda so namenjeni za »diagnostično uporabo *in vitro*«. Samo za strokovno uporabo. S tem ročnim, semikvantitativnim postopkom se v eritrocitih vzorcev človeškega krvnega razmaza odkriva hemoglobin ploda.

Napredek v tehnikah za izolacijo in karakterizacijo beljakovin je pripeljal do odkritja, da obstaja več razlikovalnih lastnosti, ki omogočajo razlikovanje med hemoglobinom ploda in odraslih. Med njimi je odpornost hemoglobina ploda (hemoglobina F) proti kislinski eluciji. Ko se na primer krvne razmaze potopi v kisli pufer, se iz eritrocitov eluira hemoglobin odraslih, medtem ko se hemoglobin ploda ne eluira. Če krvne razmaze obdelamo na ta način in jih nato obarvamo, se eritrociti s hemoglobinom F obarvajo, medtem ko so tisti, ki vsebujejo le hemoglobin odraslih, videti kot »sence«.

Tehniko diapozitivov za dokazovanje hemoglobina ploda glede na njegovo odpornost proti kislinski eluciji so prvotno predlagali Kleihauer in sod.[1] Kasneje so jo spremenili Shepard in sod.[2] Izdelana metoda Sigma predstavlja nadaljnje izboljšanje tega pristopa, ki sta ga opisala Oski in Naiman.[3]

V primerih nezdružljivosti Rh se vse pogosteje uporablja zaviranje imunskih reakcij na rdeče krvničke, ki vstopajo v materin krvni obtok iz ploda. Količina specifičnega globulina gama, ki vsebuje anti Rh(D), ki ga je treba dati, se izračuna z oceno velikosti krvavitve med plodom in materjo.[4]

V skladu z opisano tehniko se krvni razmazi, ki so bili pravilno posušeni in fiksirani, potopijo v citratni pufer s pH 3,3 pri temperaturi 37 °C. Hemoglobin A pri odraslih (HbA) se raztopi iz celic, medtem ko hemoglobin ploda (HbF), ki je odporen proti kislinam, ostane znotraj celic in se lahko obarva za mikroskopski pregled.

Reagenti

Koncentrat citratnega fosfatnega pufra (kat. št. 2851)
Natrijev citrat, 0,7 mol/l, in natrijev fosfat, 0,6 mol/l, kloroform je dodan kot konzervans

Kisla raztopina hematoksilina (kat. št. 2852)
Hematoksilin, certificiran, 1 g/l, C.I. 75290, aluminij-amonijev sulfat, natrijevi jodati in stabilizatorji, pH 3,3

Raztopina eozina B (kat. št. 2853)
Eozin B, 0,1 %, vodna raztopina, C.I. 45400. Natrijev azid, 0,1%, dodan kot konzervans

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Mikroskop
- Mikroskopska stekelca, krovna stekelca
- Stojalo za barvanje/kozarci Coplin
- Vodna kopel, 37 °C
- Etanolni fiksativ (kat. št. 2858) 80 vol% etilni alkohol

Shranjevanje in stabilnost

Koncentrat citratnega fosfatnega pufra hranite v hladilniku (2-8 °C). Če obstajajo dokazi o mikrobni rasti, ga zavrzite.

Citratno fosfatno pufrsko raztopino hranite v hladilniku (2-8 °C). Stabilno 2 tedna. Vsak dan uporabite svež alikvot. Če obstajajo dokazi o mikrobni rasti, ga zavrzite.

Kislo raztopino hematoksilina in raztopino eozina B hranite pri sobni temperaturi (18-26 °C). Raztopine se lahko ponovno uporabijo, če so shranjene v trdno zaprtih kozarcih za barvanje na šibki svetlobi.

Etanolni fiksativ je treba hraniti pri sobni temperaturi. Shranjujte trdno zaprto in kot vnetljivo tekočino. Raztopina se lahko ponovno uporabi, vendar jo je treba zavreči, če fiksacija ni ustrezna.

Poslabšanje kakovosti

Kislo raztopino hematoksilina zavrzite, če je čas, potreben za ustrezno obarvanje, daljši od 8 minut.

Priprava

Raztopino citratnega fosfatnega pufra pripravimo tako, da 1 volumen koncentrata citratnega fosfatnega pufra razredčimo z 9 volumni vode.

Kisla raztopina hematoksilina, raztopina eozina B in etanolni fiksativ so pripravljeni za uporabo.

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.

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

Postopek

Zbiranje vzorcev

Vsi vzorci morajo biti jasno označeni. Za pridobivanje in pripravo vzorcev je treba uporabiti ustrezne instrumente. Upoštevajte navodila proizvajalca za uporabo.

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.

Uporabiti je mogoče kapilarno ali vensko kri. Kapilarno kri lahko prenesete neposredno na čisto mikroskopsko stekelce. Vensko kri je treba dodati v epruveto, ki vsebuje EDTA ali oksalat. Zaradi priročnosti uporabite 1–2 kapljici 2-odstotne raztopine EDTA (kat. št. 2854) na ml krvi (1 kapljica = 1 mg). Čeprav naj bi bile mešanice krvi in EDTA primerne za uporabo do 2 tedna, če so shranjene v hladilniku.[2] Iz krvi, zbrane v oksalatu, je treba razmaze pripraviti v 24 urah.[5] Pri vzorcih novorojenčkov je priporočljivo kri razredčiti z 0,85-% fiziološko raztopino, saj imajo taki vzorci visoko vsebnost HbF. Krvni razmazi niso stabilni in jih je treba testirati takoj po pripravi.

Opombe

Zaradi nadzora kakovosti je priporočljivo, da se v vsako serijo testov vključi kri normalnega odraslega (HbA) in novorojenčka ali dojenčka (HbF). Barr in Shafer[6] poročata, da je mogoče fiksirane pozitivne kontrolne preparate iz popkovnične krvi v EDTA hraniti do 1 leta pri -20 °C v zaprti kartonski škatli. Vendar pa se negativne kontrole EDTA po več kot 2-mesečnem shranjevanju pri temperaturi -20 °C ne eluirajo popolnoma. Ti raziskovalci predlagajo pripravo pozitivnih in negativnih razmazov na istem stekelcu, kar omogoča jasne in hitre kontraste kot referenco pri branju testnih stekelc.

Normalni razponi[7]

Starost	Hemoglobin ploda (%)
Ob rojstvu	50–90
< 2 leti	0–4
> 2 leti	0–2

Postopek

1. Citratno-fosfatno pufrsko raztopino je treba segreti na 37 °C v kozarcu Coplin ali posodi za barvanje.
2. Na čistih, označenih mikroskopskih stekelcih naredite tanke krvne razmaze. Pripravite KONTROLNA stekelca s pozitivno HbF krvjo (popkovnična kri) in normalno krvjo odraslih. Sušite na zraku približno 10 minut.
3. Stekelca fiksirajte tako, da jih za 5 minut potopite v etanolni fiksativ, temeljito sperite z vodo iz pipe in posušite na zraku.
4. TESTNA in KONTROLNA stekelca za 5 minut potopite v predhodno ogreto raztopino citratnega fosfatnega pufra pri 37 °C. Po 1 in 3 minutah potopitve premešajte. Moč mešanja lahko spreminjate, da dosežete najbolj zaželene rezultate. Temeljito sperite z destilirano vodo in **popolnoma** osušite na zraku, da se izognete obarvanju artefaktov.
5. Stekelca 3 minute barvajte v kisli raztopini hematoksilina. Stekelca temeljito sperite z destilirano vodo in stresite odvečno vodo.
6. Stekelca 4 minute barvajte v 0,1-odstotni raztopini eozina B. Temeljito sperite z destilirano vodo in osušite na zraku.
7. Na stekelce položite **suho** krovno stekelce in ga preglejte s potopitvijo v olje (1000X). Odsotnost HbF se kaže v prisotnosti celic »senc«, medtem ko zadržani HbF povzroči, da so celice videti svetlo rdeče. **Ne** nanašajte olja neposredno na stekelce. (**Opomba**: Uporabite lahko 400-kratno povečavo, vendar bo zaradi večjega polja morda težje šteti.)

Lastnosti delovanja

Delež eritrocitov, ki vsebujejo fetalni hemoglobin, lahko ocenimo na več načinov. Oski in Naiman[3] sta pri preučevanju materine krvi z dokazom celic, ki vsebujejo HbF, priporočila naslednje:

1. Preštejte skupno število eritrocitov v 5 poljih in določite povprečno število na polje.
2. Preštejte število globoko obarvanih eritrocitov, ki vsebujejo HbF, v približno 30 poljih in določite povprečno število na polje.
3. Izračunajte odstotek eritrocitov HbF na podlagi skupnega števila eritrocitov na polje.

Rezultati so podani kot odstotek prisotnega HbF.

Oski in Naiman[3] navajata, da je s to metodo mogoče odkriti že 0,1 ml krvi ploda v materinem krvnem obtoku.

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
2851	Koncentrat citratnega fosfatnega pufra	Hemoglobin ploda	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
2852	Kisla raztopina hematoksilina	Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
2853	Raztopina eozina B	Hemoglobin ploda	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.

285C + 285D:

H319 Povzroča hudo draženje oči.

H350 Lahko povzroči raka.

P201 Pred uporabo pridobiti posebna navodila.

P202 Ne uporabljajte, dokler ne preberete in razumete vseh varnostnih ukrepov.

P264 Po uporabi temeljito umiti kožo.

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

P280 Nositi zaščito za oči/zaščito za obraz.

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

P308 + P313 PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P337 + P313 Če draženje oči ne preneha, poiščite zdravniško pomoč/oskrbo.

P405 Hraniti zaklenjeno.

P501 Odstranite 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	REF	Kataloška številka
	Natančno preberite navodila za uporabo	LOT	Koda serije
EC REP	Pooblaščeni zastopnik v Evropski skupnosti/Evropski uniji	CE	Izjava Evropske unije o skladnosti (opredeljena v IVDR 2017/746)
	Rok uporabe	IVD	Medicinski diagnostični pripomoček *in vitro*
	Temperaturna omejitev		Pozor
	Datum izdelave		Uvoznik
CH REP	Označuje pooblaščenega zastopnika v Švici		

Reference

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktni podatki

Če želite oddati naročilo, obiščite naše spletno mesto SigmaAldrich.com. Če želite tehnično pomoč, obiščite stran tehničnega servisa na našem spletnem mestu SigmaAldrich.com/techservice.

Zgodovina revizij

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Posodobljeni so viri literature. Dodana je preglednica zgodovine revizij. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodani podatki o CH-REP.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Instrucțiuni de utilizare

Kit pentru determinarea hemoglobinei fetale

Procedura nr. 285

IVD CE

Domeniu de utilizare

Reactivii pentru determinarea hemoglobinei fetale sunt destinați utilizării drept colorant histochimic general de laborator pentru determinarea hemoglobinei fetale din frotiuri de sânge prin eluție acidă. Reactivii de colorare pentru determinarea hemoglobinei fetale sunt pentru „Utilizare în vederea diagnosticării *in vitro*". Numai pentru uz profesional. Această procedură manuală semicantitativă detectează hemoglobina fetală din eritrocitele frotiurilor de sânge uman.

În urma progreselor privind tehnicile de izolare și de caracterizare a proteinelor, s-a descoperit că există mai multe proprietăți distinctive care fac posibilă diferențierea hemoglobinei fetale de cea adultă. Printre acestea se numără rezistența hemoglobinei fetale (hemoglobină F) la eluția acidă. De exemplu, atunci când frotiurile de sânge sunt imersate în soluție tampon acidă, hemoglobina adultă este eluată din eritrocite, în timp ce hemoglobina fetală nu. Dacă frotiurile de sânge sunt tratate în acest mod și ulterior sunt colorate, eritrocitele care conțin hemoglobină F vor absorbi colorantul, iar cele care conțin doar hemoglobină adultă vor apărea ca „fantome".

Tehnica tratării lamelor pentru demonstrarea hemoglobinei fetale în ceea ce privește rezistența acesteia la eluția acidă a fost propusă inițial de Kleihauer et al.[1] și ulterior modificată de Shepard et al.[2] Produsul Sigma reprezintă o îmbunătățire suplimentară a acestei abordări, conform descrierii lui Oski și Naiman.[3]

În cazurile de incompatibilitate Rh, devine din ce în ce mai frecventă suprimarea reacțiilor imune față de globulele roșii fetale care pătrund în circulația maternă. Cantitatea de gamaglobulină specifică, ce conține anticorpi anti-Rh(D), care trebuie administrată, se calculează prin evaluarea magnitudinii hemoragiei feto-materne.[4]

Conform tehnicii descrise, frotiurile de sânge, care au fost uscate și fixate corespunzător, sunt imersate într-o soluție tampon de citrat cu pH 3,3 la 37 °C. Hemoglobina A adultă (HbA) se dizolvă din celule, în timp ce hemoglobina fetală (HbF), care este rezistentă la acid, rămâne intracelulară și poate fi colorată pentru examinare microscopică.

Reactivi

Concentrat de soluție tampon citrat fosfat (nr. cat. 2851)
Citrat de sodiu 0,7 mol/l și fosfat de sodiu 0,6 mol/l, cu cloroform adăugat drept conservant

Soluție de hematoxilină acidă (nr. cat. 2852)
Hematoxilină, certificată, 1 g/l, C.I. 75290, sulfat de aluminiu și amoniu, iodați de sodiu și stabilizatori, pH 3,3

Soluție de eozină B (nr. cat. 2853)
Eozină B 0,1%, soluție apoasă, C.I. 45400. Azidă de sodiu 0,1%, adăugată drept conservant

Sunt necesare materiale speciale, dar acestea nu sunt furnizate

- Microscop
- Lame de microscop, lamele de acoperire
- Stativ de colorare/recipiente Coplin
- Baie de apă, 37 °C
- Agent de fixare etanol (nr. cat. 2858), alcool etilic 80% v/v

Depozitare și stabilitate

Păstrați concentratul de soluție tampon de citrat fosfat la frigider (2-8 °C). Aruncați-l dacă prezintă urme de creștere microbiană.

Păstrați soluția tampon de citrat fosfat la frigider (2-8 °C). Este stabilă timp de 2 săptămâni. Utilizați câte o alicotă proaspătă în fiecare zi. Aruncați-l dacă prezintă urme de creștere microbiană.

Păstrați soluția de hematoxilină acidă și soluția de eozină B la temperatura camerei (18-26 °C). Soluțiile pot fi refolosite dacă sunt depozitate în recipiente de colorare închise etanș, în condiții de lumină slabă.

Agentul de fixare etanol trebuie depozitat la temperatura camerei. Păstrați-l închis etanș și ca lichid inflamabil. Soluția poate fi refolosită, dar trebuie aruncată dacă fixarea nu este adecvată.

Deteriorare

Aruncați soluția de hematoxilină acidă când timpul necesar pentru o colorare adecvată depășește 8 minute.

Preparare

Soluția tampon de citrat-fosfat se prepară prin diluarea unui volum de concentrat de soluție tampon citrat-fosfat cu 9 volume de apă.

Soluția de hematoxilină acidă, soluția de eozină B și agentul de fixare etanol sunt gata de utilizare.

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 microscoapelor 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 deșeurile respectând toate reglementările locale, statale, provinciale sau naționale.

Procedură

Recoltarea probelor

Toate probele trebuie să fie etichetate clar. Trebuie utilizate instrumente adecvate pentru recoltarea și prepararea probelor. Respectați instrucțiunile de utilizare furnizate de producător.

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.

Se poate utiliza sânge capilar sau venos. Sângele capilar poate fi transferat direct pe o lamă de microscop curată. Sângele venos trebuie adăugat într-un tub care conține EDTA sau oxalat. Pentru comoditate, utilizați 1-2 picături de soluție EDTA 2% (nr. cat. 2854) per 1 ml de sânge (1 picătură = 1 mg). Deși s-a raportat că amestecurile de sânge cu EDTA sunt satisfăcătoare pentru utilizare timp de până la 2 săptămâni când sunt refrigerate.[2] Frotiurile trebuie preparate în primele 24 de ore, din sângele recoltat pe oxalat.[5] Când folosiți probe de la nou-născuți, se recomandă diluarea sângelui cu ser fiziologic 0,85%, deoarece astfel de probe au un conținut ridicat de HbF. Frotiurile de sânge nu sunt stabile și trebuie testate imediat după preparare.

Note

În scopul asigurării controlului calității, se recomandă ca, în fiecare serie de teste, să se includă sânge de la un adult normal (HbA1c) și sânge de la un nou-născut sau de la un sugar (HbF). Barr și Shafer[6] raportează că lamele martor pozitive fixate realizate cu sânge din cordonul ombilical, recoltat pe EDTA, pot fi conservate până la 1 an la -20 °C, într-o cutie de carton sigilată. Cu toate acestea, lamele martor negative cu EDTA nu eluează complet după ce sunt depozitate mai mult de 2 luni la -20 °C. Acești cercetători sugerează prepararea frotiurilor pozitive și negative pe aceeași lamă; astfel, se obțin contraste clare și rapide ca referință la citirea lamelor de testare.

Intervale normale[7]:

Vârstă	Hemoglobină fetală (%)
La naștere	50-90
< 2 ani	0-4
> 2 ani	0-2

Procedură

1. Soluția tampon de citrat-fosfat trebuie încălzită la 37 °C într-un recipient Coplin sau într-un vas de colorare.
2. Folosind lame de microscop curate și etichetate, realizați frotiuri de sânge subțiri. Preparați lamele MARTOR folosind sânge cu HbF pozitiv (sânge din cordonul ombilical) și sânge normal de adult. Uscați la aer aproximativ 10 minute.
3. Fixați lamele prin imersare în agent de fixare etanol timp de 5 minute, clătiți bine cu apă de la robinet și uscați la aer.
4. Introduceți lamele de TEST și MARTOR, timp de 5 minute, în soluție tampon de citrat-fosfat preîncălzită la 37 °C. Agitați după 1 minut și după 3 minute de la imersare. Gradul de agitare poate fi variat pentru a obține cele mai elocvente rezultate. Clătiți bine cu apă distilată și uscați **complet** la aer pentru a evita artefactele de colorare.
5. Colorați lamele timp de 3 minute în soluție de hematoxilină acidă. Clătiți bine lamele cu apă distilată și scuturați excesul de apă.
6. Contracolorați lamele timp de 4 minute în soluție de eozină B 0,1%. Clătiți bine cu apă distilată și uscați la aer.
7. Așezați pe lamă o lamelă de acoperire **uscată** și examinați cu un obiectiv cu imersie în ulei (1000X). Absența HbF este evidentă prin prezența celulelor fantomă, în timp ce HbF reținută face ca celulele să fie de culoare roșu-aprins. **Nu** aplicați ulei direct pe lamă. (**Notă**: Se poate utiliza puterea de mărire 400X, dar câmpul mai mare rezultat poate fi mai dificil de numărat.)

Caracteristici de performanță

Proporția de eritrocite care conțin hemoglobină fetală poate fi estimată în mai multe moduri. Studiind dovezile privind prezența celulelor care conțin HbF în sângele matern, Oski și Naiman[3] au recomandat următoarele:

1. Numărați numărul total de eritrocite din 5 câmpuri și determinați numărul mediu per câmp.
2. Numărați numărul de eritrocite care conțin HbF profund colorate din aproximativ 30 de câmpuri și determinați numărul mediu per câmp.
3. Calculați procentul de eritrocite HbF pe baza numărului total de eritrocite per câmp.

Rezultatele sunt raportate ca procent de prezență HbF.

Conform afirmațiilor lui Oski și Naiman[3], această metodă este capabilă să detecteze doar 0,1 ml de sânge fetal în circulația maternă.

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	Specificitatea intra-test	Sensibilitatea intra-test	Specificitatea inter-test	Sensibilitatea inter-test
2851	Concentrat de soluție tampon de citrat-fosfat	Hemoglobină fetală	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
2852	Soluție de hematoxilină acidă	Nuclee	3 din 3	3 din 3	3 din 3	3 din 3
2853	Soluție de eozină B	Hemoglobină fetală	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.

285C, 285D:

H319 Provoacă o iritare gravă a ochilor.

H350 Poate provoca cancer.

P201 Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare.

P202 A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate.

P264 Spălați-vă bine pielea după utilizare.

P280 Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

P280 Purtați echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței.

P305 + P351 + P338 ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

P308 + P313 ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: consultați medicul.

P337 + P313 Dacă iritarea ochilor persistă: consultați medicul.

P405 A se depozita sub cheie.

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	REF	Număr de catalog
	Consultați instrucțiunile de utilizare	LOT	Codul lotului
EC REP	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană/Uniunea Europeană	CE	Declarația de conformitate pentru Uniunea Europeană (definită în IVDR 2017/746)
	Data limită de utilizare	IVD	Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*
	Limita de temperatură		Atenție
	Data fabricației		Importator
CH REP	Indică reprezentantul autorizat în Elveția		

Referințe

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Informații de contact

Pentru a plasa o comandă, vizitați site-ul nostru web la SigmaAldrich.com. Pentru servicii tehnice, vizitați pagina de servicii tehnice de pe site-ul nostru web la SigmaAldrich.com/techservice.

Istoricul versiunilor

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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-au actualizat trimiterile către literatura de specialitate. S-a adăugat un tabel cu istoricul versiunilor. S-a adăugat secțiunea Avertizări și pericole. S-au adăugat informații despre reprezentantul în Elveția.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Upute za upotrebu

Komplet Fetal Hemoglobin

Postupak br. 285

IVD CE

Predviđena namjena

Reagensi fetalnog hemoglobina namijenjeni su za uporabu kao opće histološko laboratorijsko bojilo za određivanje fetalnog hemoglobina u razmazima krvi pomoću elucije kiseline. Reagensi bojila fetusnog hemoglobina namijenjeni su za „*in vitro* dijagnostičku upotrebu". Samo za profesionalnu upotrebu. Ovaj ručni, polukvantitativni postupak prepoznaje fetalni hemoglobin u eritrocitima ljudskih razmaza krvi.

Napredak u tehnikama izolacije i karakterizacije proteina doveo je do otkrića da postoji nekoliko razlikovnih svojstava koja omogućuju razlikovanje fetalnog od odraslog hemoglobina. Među njima je i otpornost fetalnog hemoglobina (hemoglobina F) na eluciju kiseline. Na primjer, kad se razmaze krvi uroni u kiseli pufer, odrasli hemoglobin izlučuje se iz eritrocita, što ne vrijedi za fetalni hemoglobin. Ako se razmaze krvi tretira na taj način i naknadno oboji, eritrociti s hemoglobinom F poprimit će boju, dok se oni koji sadrže samo odrasli hemoglobin pojavljuju kao „stanice-duhovi".

Tehniku sa stakalcima za dokazivanje fetalnog hemoglobina u smislu njegove otpornosti na eluciju kiseline izvorno su predložili Kleihauer i sur.,[1] a kasnije su je izmijenili Shepard i sur.[2] Ona koju je osmislila tvrtka Sigma predstavlja daljnje poboljšanje pristupa kako ga opisuju Oski i Naiman.[3]

U slučajevima Rh nekompatibilnosti sve je češće suzbijanje imunoloških reakcija na crvene krvne stanice koje ulaze u majčin krvotok iz fetusa. Količina specifičnog gamaglobulina koji sadrži anti Rh(D) za primjenu izračunava se procjenom količine fetomaternalnog krvarenja.[4]

Prema opisanoj tehnici, razmazi krvi, koji su pravilno osušeni i fiksirani, uranjaju se u pufer citrata uz pH od 3,3 pri 37 °C. Odrasli hemoglobin A (HbA) otapa se izvan stanica, dok fetalni hemoglobin (HbF), koji je otporan na kiseline, ostaje unutar stanica i može se obojiti za mikroskopski pregled.

Reagensi

Koncentrat citrat-fosfatnog pufera (kat. br. 2851)
Natrijev citrat, 0,7 mol/l i natrijev fosfat, 0,6 mol/l, kloroform dodan kao konzervans

Kisela otopina hematoksilina (kat. br. 2852)
Hematoksilin, certificiran, 1 g/l, C.I. 75290, aluminijev amonijev sulfat, natrijevi jodati i stabilizatori, pH 3,3

Otopina eozina B (kat. br. 2853)
Vodena otopina eozina B, 0,1 % 45400. Natrijev azid, 0,1 %, dodano kao konzervans

Potrebni, ali neisporučeni posebni materijali

- Mikroskop
- Mikroskopska stakalca, pokrovi za stakalca
- Okvir za bojenje / posuda za bojenje histoloških preparata
- Vodena kupelj, 37 °C
- Fiksativ etanola, (kat. br. 2858) etilni alkohol volumnog udjela 80 %

Pohrana i stabilnost

Koncentrat citratnog-fosfatnog pufera čuvajte u hladnjaku (2 – 8 °C). Odložite u otpad ako postoje dokazi o razvoju mikroba.

Otopinu citrat-fosfatnog pufera čuvajte u hladnjaku (2 – 8 °C). Stabilno dva tjedna. Svaki dan upotrijebite svježi alikvot. Odložite u otpad ako postoje dokazi o razvoju mikroba.

Kiselu otopinu hematoksilina i otopinu eozina B čuvajte na sobnoj temperaturi (18 – 26 °C). Otopine se mogu ponovno upotrijebiti ako se čuvaju u dobro zatvorenim posudama za bojenje uz prigušenu svjetlost.

Fiksativ etanola treba se čuvati na sobnoj temperaturi. Čuvati dobro zatvorenim i kao zapaljivu tekućinu. Otopina se može upotrijebiti nekoliko puta, ali treba je odložiti u otpad u slučaju neadekvatne fiksacije.

Kvarenje

Kiselu otopinu hematoksilina odložite u otpad kad vrijeme potrebno za odgovarajuće bojenje prijeđe 8 minuta.

Priprema

Otopina citrat-fosfatnog pufera priprema se razrjeđivanjem 1 volumena koncentrata citrat-fosfatnog koncentrata s 9 volumena vode.

Kisela otopina hematoksilina, otopina eozina B i fiksativ etanola spremni su za upotrebu.

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

Svi uzorci moraju se jasno označiti. Prilikom uzimanja i pripreme uzoraka moraju se upotrebljavati prikladni instrumenti. Slijedite upute proizvođača za upotrebu.

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

Može se upotrijebiti kapilarna ili venska krv. Kapilarna krv može se prenijeti izravno na čisto mikroskopsko stakalce. Venska krv treba se dodati u epruvetu koja sadrži EDTA ili oksalat. Radi praktičnosti upotrijebite 1 – 2 kapi 2 %-tne otopine EDTA-e (kat. br. 2854) po ml krvi (1 kap = 1 mg). Iako je uočeno da su smjese krvi i EDTA-e zadovoljavajuće za uporabu do 2 tjedna ako se čuvaju u hladnjaku.[2] Razmazi se trebaju pripremiti u roku od 24 sata iz krvi prikupljene u oksalatu.[5] Pri upotrebi uzoraka novorođenčeta, preporučuje se razrijediti krv s 0,85 %-tnom fiziološkom otopinom jer ti uzorci imaju visok sadržaj HbF-a. Razmazi krvi nisu stabilni i moraju se testirati odmah nakon pripreme.

Napomene

U svrhu kontrole kvalitete preporučuje se da se u svaku seriju testova uključi krv zdrave odrasle osobe (HbA) i krv novorođenčeta ili dojenčeta (HbF). Barr i Shafer[6] navode da se fiksirana kontrolna stakalca s pozitivnom krvi iz pupkovine mogu čuvati do 1 godine u EDTA-i na -20 °C u zatvorenoj kartonskoj kutiji. Međutim, EDTA negativna kontrolna stakalca ne eluiraju u potpunosti nakon skladištenja dulje od 2 mjeseca na -20 °C. Ispitivači predlažu pripremu pozitivnih i negativnih razmaza na istom stakalcu; stoga pružaju jasne i brze kontraste kao referencu za očitavanje stakalaca testa.

Normalni rasponi[7]

Dob	Fetalni hemoglobin (%)
Pri rođenju	50 – 90
< 2 godine	0 – 4
> 2 godine	0 – 2

Postupak

1. Otopinu citrat-fosfatnog pufera treba zagrijati na 37 °C u posudi za bojenje histoloških preparata ili posudici za bojenje.
2. Pomoću čistih, označenih mikroskopskih stakalaca napravite tanke razmaze krvi. Pripremite KONTROLNA stakalca koristeći pozitivnu HbF krv (krv iz pupčane vrpce) i normalnu krv odrasle osobe. Sušite na zraku otprilike 10 minuta.
3. Fiksirajte stakalca uranjanjem u fiksativ etanola 5 minuta, temeljito isperite vodovodnom vodom i osušite na zraku.
4. ISPITNA i KONTROLNA stakalca uronite u prethodno zagrijanu otopinu citrat-fosfatnog pufera na 37 °C tijekom 5 minuta. Protresite nakon 1 i 3 minute uranjanja. Mjera trešnje može se mijenjati kako bi se postigli najpoželjniji rezultati. Temeljito isperite destiliranom vodom i **potpuno** osušite na zraku da bi se izbjegle mrlje od artefakata.
5. Bojite stakalca 3 minute u kiseloj otopini hematoksilina. Temeljito isperite stakalca destiliranom vodom i otresite višak vode.
6. Kontrastirajte stakalca 4 minute u 0,1 %-tnoj otopini eozina B. Temeljito isperite u destiliranoj vodi i osušite na zraku.
7. Stavite **suhi poklopac** na stakalce i pregledajte pomoću uranjanja u ulje (1000X). Odsutnost HbF-a jasna je po prisutnosti stanica-duhova, dok uz očuvani HbF stanice izgledaju jarko crvene. **Nemojte** nanositi ulje izravno na stakalce. (**Napomena**: može se koristiti uvećanje od 400X, ali nastalo veće polje može biti teže za prebrojavanje.)

Značajke performansi

Udio eritrocita koji sadrže fetalni hemoglobin može se procijeniti na nekoliko načina. Za ispitivanje majčine krvi na stanice koje sadrže HbF Oski i Naiman[3] preporučuju sljedeće:

1. Izbrojati ukupan broj eritrocita u pet polja i odrediti prosječan broj po polju.
2. Izbrojati broj izraženo obojenih eritrocita koji sadrže HbF u oko 30 polja i odrediti prosječan broj po polju.
3. Izračunati postotak eritrocita HbF-a na temelju ukupnog broja eritrocita po polju.

Rezultati se iskazuju kao postotak prisutnog HbF-a.

Prema Oskiju i Naimanu[3] ova metoda može otkriti čak 0,1 ml fetalne krvi u majčinom krvotoku.

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
2851	Koncentrat citrat-fosfatnog pufera	Fetalni hemoglobin	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
2852	Kisela otopina hematoksilina	Jezgre	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
2853	Otopina eozina B	Fetalni hemoglobin	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.

285C, 285D:

H319 Uzrokuje nadražaj očiju.

H350 Može uzrokovati rak.

P201 Prije uporabe pribaviti posebne upute.

P202 Ne rukovati prije upoznavanja i razumijevanja sigurnosnih mjera predostrožnosti.

P264 Nakon uporabe temeljito oprati kožu.

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

P280 Nositi zaštitu za oči/lice.

P305 + P351 + P338 AKO DOSPIJE U OČI oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ako ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje.

P308 + P313 U SLUČAJU izlaganja ili zabrinutosti zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P337 + P313 Ako dođe do ustrajne iritacije oka zatražiti savjet/pomoć liječnika.

P405 Skladištiti pod ključem.

P501 Odložite 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	REF	Kataloški broj
	Pogledajte upute za upotrebu	LOT	Broj serije
EC REP	Ovlašteni zastupnik u Europskoj zajednici / Europskoj uniji	CE	Izjava Europske unije o sukladnosti (definirano u IVDR 2017/746)
	Rok upotrebe	IVD	*In vitro* dijagnostički medicinski proizvod
STERILE	Ograničenje temperature		Oprez
	Datum proizvodnje		Uvoznik
CH REP	Upućuje na ovlaštenog zastupnika u Švicarskoj		

Reference

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Podaci za kontakt

Za narudžbu, posjetite našu internetsku stranicu na adresi SigmaAldrich.com. Za Tehničku službu, posjetite stranicu tehničke službe na našoj internetskoj stranici na adresi SigmaAldrich.com/techservice.

Povijest izmjena

Rev. 4.0.	2014.
Rev. 5.0.	2016.
Rev. 6.0.	2023. Preneseno na novi obrazac s trenutačnom 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. Ažurirane reference iz literature. Dodana tablica povijesti izmjena. Dodana upozorenja i opasnosti Dodane informacije o CH-REP.
Rev. 7.0.	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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

Sigma-Aldrich®

Instrukcja używania

Zestaw do badania hemoglobiny płodowej

Procedura nr 285

IVD CE

MERCK

Przeznaczenie

Odczynniki do oznaczania hemoglobiny płodowej są przeznaczone do stosowania jako ogólna laboratoryjna metoda barwienia histochemicznego do oznaczania hemoglobiny płodowej w rozmazach krwi metodą elucji kwasem. Odczynniki do barwienia hemoglobiny płodowej są przeznaczone do diagnostyki *in vitro*. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Ta manualna, półilościowa procedura pozwala na wykrycie hemoglobiny płodowej w erytrocytach w próbkach rozmazu krwi ludzkiej.

Postęp w technice izolacji i charakterystyce białek doprowadził do odkrycia, że istnieje kilka charakterystycznych cech, które umożliwiają odróżnienie hemoglobiny płodowej od hemoglobiny dorosłych. Jedną z nich jest odporność hemoglobiny płodowej (hemoglobiny F) na elucję kwasem. Na przykład, gdy rozmaz krwi zanurzy się w buforze kwasowym, hemoglobina dorosłych ulega elucji z erytrocytów, podczas gdy hemoglobina płodowa nie ulega elucji. Jeżeli rozmazy krwi zostaną potraktowane w ten sposób, a następnie wybarwione, erytrocyty zawierające hemoglobinę F zabarwią się, natomiast te zawierające wyłącznie hemoglobinę dorosłych pojawią się jako „cienie komórek".

Technika szkiełkowa służąca do wykazania obecności hemoglobiny płodowej na podstawie jej odporności na elucję kwasem została pierwotnie zaproponowana przez Kleihauera i in.[1], a później zmodyfikowana przez Sheparda i in.[2] Zestaw produkowany przez firmę Sigma stanowi dalsze udoskonalenie tego podejścia, jak opisali Oski i Naiman[3].

W przypadku konfliktu serologicznego coraz częściej dochodzi do zahamowania reakcji immunologicznej na krwinki czerwone przedostające się z organizmu płodu do krwiobiegu matki. Ilość specyficznej gammaglobuliny zawierającej przeciwciała anty-Rh(D), którą należy podać, oblicza się na podstawie oceny nasilenia krwotoku płodowo-matczynego[4].

Zgodnie z opisaną techniką, rozmazy krwi, które zostały odpowiednio wysuszone i utrwalone, zanurza się w buforze cytrynianowym o pH 3,3 w temperaturze 37°C. Hemoglobina A (HbA) dorosłych rozpuszcza się w komórkach, podczas gdy hemoglobina płodowa (HbF), która jest odporna na kwasy, pozostaje wewnątrz komórek i może zostać wybarwiona na potrzeby badania mikroskopowego.

Odczynniki

Koncentrat buforu cytrynianowo-fosforanowego (nr kat. 2851)
Cytrynian sodu 0,7 mol/l i fosforan sodu 0,6 mol/l, chloroform dodany jako środek konserwujący

Kwasowy roztwór hematoksyliny (nr kat. 2852)
Hematoksylina, certyfikowana, 1 g/l, C.I. 75290, siarczan glinowo-amonowy, jodan sodu i stabilizatory, pH 3,3

Roztwór eozyny B (nr kat. 2853)
Eozyna B, 0,1%, roztwór wodny, C.I. 45400. Azydek sodu 0,1% dodany jako środek konserwujący

Specjalne wymagane materiały niedołączone do zestawu

- Mikroskop
- Szkiełka mikroskopowe, szkiełka nakrywkowe
- Statyw do barwienia / słoiki Coplina
- Łaźnia wodna, 37°C
- Utrwalacz etanolowy (nr kat. 2858) 80% obj./obj. alkoholu etylowego

Przechowywanie i stabilność

Koncentrat buforu cytrynianowo-fosforanowego należy przechowywać w lodówce (2–8°C). W razie stwierdzenia obecności drobnoustrojów należy go wyrzucić.

Roztwór buforu cytrynianowo-fosforanowego należy przechowywać w lodówce (2–8°C). Roztwór zachowuje stabilność przez 2 tygodnie. Codziennie należy używać świeżej porcji. W razie stwierdzenia obecności drobnoustrojów należy go wyrzucić.

Kwasowy roztwór hematoksyliny i roztwór eozyny B należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–26°C). Roztworów można użyć ponownie, jeżeli przechowuje się je w szczelnie zamkniętych słoikach w warunkach słabego oświetlenia.

Utrwalacz etanolowy należy przechowywać w temperaturze pokojowej. Przechowywać w szczelnie zamkniętym opakowaniu jako łatwopalną ciecz. Roztworu można użyć ponownie, ale należy go wyrzucić, jeśli utrwalenie okaże się niewystarczające.

Pogorszenie jakości

Kwasowy roztwór hematoksyliny należy wyrzucić, jeśli czas potrzebny do uzyskania odpowiedniego wybarwienia przekroczy 8 minut.

Przygotowanie

Roztwór buforu cytrynianowo-fosforanowego przygotowuje się poprzez rozcieńczenie 1 objętości koncentratu buforu cytrynianowo-fosforanowego w 9 objętościach wody.

Kwasowy roztwór hematoksyliny, roztwór eozyny B i utrwalacz etanolowy są gotowe do użycia.

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

Wszystkie próbki muszą być wyraźnie oznaczone. Do pobierania i przygotowywania próbek należy używać odpowiednich przyrządów. Przestrzegać instrukcji obsługi wydanej przez producenta.

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 użyć krwi włośniczkowej lub żylnej. Krew włośniczkową można przenieść bezpośrednio na czyste szkiełko mikroskopowe. Krew żylną należy pobrać do probówki zawierającej EDTA lub szczawian. Dla wygody należy stosować 1–2 krople 2% roztworu EDTA (nr kat. 2854) na ml krwi (1 kropla = 1 mg). Chociaż donoszono, że mieszaniny krwi i EDTA nadają się do stosowania w przypadku przechowywania do 2 tygodni w lodówce[2], rozmazy należy wykonać w ciągu 24 godzin od pobrania krwi na szczawian[5]. W przypadku próbek pobranych od noworodków zaleca się rozcieńczenie krwi 0,85% roztworem soli fizjologicznej, ponieważ takie próbki mają wysoką zawartość HbF. Rozmazy krwi nie są stabilne i należy je zbadać natychmiast po przygotowaniu.

Uwagi

W celach kontroli jakości zaleca się, aby w każdej serii testów uwzględniać krew pobraną od zdrowej osoby dorosłej (HbA) oraz od noworodka lub niemowlęcia (HbF). Barr i Shafer[6] donoszą, że utrwalone dodatnie preparaty kontrolne z krwi pępowinowej pobranej na EDTA można przechowywać do 1 roku w temperaturze −20°C, w szczelnie zamkniętym pudełku tekturowym. Niemniej kontrole ujemne z EDTA nie ulegają całkowitej elucji po przechowywaniu przez ponad 2 miesiące w temperaturze −20°C. Badacze sugerują zatem przygotowanie rozmazów dodatnich i ujemnych na tym samym szkiełku, zapewniając w ten sposób wyraźne i szybkie kontrasty jako punkt odniesienia przy interpretacji szkiełek testowych.

Zakresy normy[7]

Wiek	Hemoglobina płodowa (%)
Przy narodzinach	50–90
< 2 lata	0–4
> 2 lata	0–2

Procedura

1. Roztwór buforu cytrynianowo-fosforanowego należy podgrzać do temperatury 37°C w słoiku Coplina lub naczyniu do barwienia.
2. Używając czystych, opisanych szkiełek mikroskopowych, należy wykonać cienkie rozmazy krwi. Przygotować preparaty KONTROLNE, używając krwi HbF-dodatniej (krew pępowinowa) i prawidłowej krwi osoby dorosłej. Suszyć na powietrzu przez mniej więcej 10 minut.
3. Utrwalić szkiełka poprzez zanurzenie ich w utrwalaczu etanolowym na 5 minut, dokładnie spłukać wodą wodociągową i wysuszyć na powietrzu.
4. Zanurzyć szkiełka TESTOWE i KONTROLNE w podgrzanym roztworze buforu cytrynianowo-fosforanowego w temperaturze 37°C na 5 minut. Wymieszać po 1 i 3 minutach od zanurzenia. Aby osiągnąć najbardziej pożądane rezultaty, można zmieniać intensywność mieszania. Dokładnie spłukać wodą destylowaną i **całkowicie** wysuszyć na powietrzu, aby uniknąć powstania artefaktów podczas barwienia.
5. Wykonać barwienie szkiełek przez 3 minuty w kwasowym roztworze hematoksyliny. Dokładnie spłukać szkiełka wodą destylowaną i strząsnąć jej nadmiar.
6. Wykonać kontrastowe barwienie szkiełek w 0,1% roztworze eozyny B przez 4 minuty. Dokładnie spłukać wodą destylowaną i wysuszyć na powietrzu.
7. Na szkiełko podstawowe nałożyć **suche** szkiełko nakrywkowe i zbadać po nałożeniu oleju immersyjnego (1000X). Brak HbF objawia się obecnością cieni komórek, natomiast obecność zatrzymanej HbF sprawia, że komórki przybierają jasnoczerwony kolor. **Nie** nanosić oleju bezpośrednio na szkiełko. (**Uwaga**: można zastosować powiększenie 400X, ale większe pole widzenia może utrudniać zliczanie).

Parametry użytkowe

Odsetek erytrocytów zawierających hemoglobinę płodową można oszacować na kilka sposobów. Podczas badania krwi matek pod kątem obecności komórek zawierających HbF Oski i Naiman[3] zalecili następujące działania:

1. Zliczyć całkowitą liczbę erytrocytów w 5 polach i określić średnią liczbę na pole.
2. Zliczyć liczbę głęboko wybarwionych erytrocytów zawierających HbF w około 30 polach i określić średnią liczbę na pole.
3. Obliczyć procentową zawartość erytrocytów HbF na podstawie całkowitej liczby erytrocytów na pole.

Wyniki podano jako odsetek obecnych HbF.

Według Oskiego i Naimana[3] metoda ta pozwala wykryć obecność krwi płodowej w krążeniu matki na poziomie zaledwie 0,1 ml.

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
2851	Koncentrat buforu cytrynianowo-fosforanowego	Hemoglobina płodowa	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
2852	Kwasowy roztwór hematoksyliny	Jądra komórkowe	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
2853	Roztwór eozyny B	Hemoglobina płodowa	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.

285C, 285D:

H319 Działa drażniąco na oczy.

H350 Może powodować raka.

P201 Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.

P202 Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.

P264 Dokładnie umyć skórę po użyciu.

P280 Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.

P280 Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy.

P305 + P351 + P338 W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

P308 + P313 W przypadku narażenia lub styczności: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

P337 + P313 W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

P405 Przechowywać pod zamknięciem.

P501 Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego 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	REF	Numer katalogowy
	Zapoznać się z instrukcją użycia	LOT	Kod partii
EC REP	Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / na terenie Unii Europejskiej	CE	Deklaracja zgodności w Unii Europejskiej (zdefiniowana w IVDR 2017/746)
	Termin przydatności do użycia	IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*
	Zakres dopuszczalnych temperatur		Przestroga
	Data produkcji		Importer
CH REP	Wskazuje autoryzowanego przedstawiciela w Szwajcarii		

Literatura

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Dane kontaktowe

Zamówienia można składać za pośrednictwem naszej strony internetowej: SigmaAldrich.com. Pomoc serwisu technicznego można uzyskać za pośrednictwem karty serwisowej w obrębie naszej strony internetowej: SigmaAldrich.com/techservice.

Poprzednie wersje

Wer. 4.0	2014
Wer. 5.0	2016
Wer. 6.0	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. Zaktualizowano literaturę. Dodano tabelę z historią zmian. Dodano część „Ostrzeżenia i zagrożenia”. Dodano informacje o przedstawicielu w Szwajcarii.
Wer. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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.

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

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

Ред. 7.0, 91748-LS, 2025 г.

Sigma-Aldrich®

Инструкции за употреба

Комплект за фетален хемоглобин

Процедура № 285

MERCK

IVD CE

Предназначение

Реагентите за фетален хемоглобин са предназначени за употреба като общ лабораторен хистохимичен оцветител за определяне на фетален хемоглобин чрез киселинно елуиране в кръвни натривки. Реагентите на оцветителя на фетален хемоглобин са предназначени за „*in vitro* диагностична употреба". Само за професионална употреба. Тази ръчна полуколичествена процедура открива фетален хемоглобин в еритроцити на човешки образци от кръвни натривки.

Напредъкът в техниките за изолиране и характеризиране на протеини доведе до откритието, че има няколко отличителни свойства, които правят възможно разграничаването на феталния хемоглобин от този при възрастни. Сред тях е резистентността на феталния хемоглобин (хемоглобин F) към киселинно елуиране. Когато например кръвните натривки се потопят в киселинен буфер, хемоглобинът при възрастни се елуира от еритроцитите, докато феталният хемоглобин не се елуира. Ако кръвните натривки се обработят по този начин и впоследствие се оцветят, еритроцитите, съдържащи хемоглобин F, ще поемат оцветяването, докато тези, съдържащи само хемоглобин при възрастни, се появяват като „фантоми".

Техниката с предметни стъкла за демонстриране на фетален хемоглобин по отношение на неговата устойчивост на киселинно елуиране първоначално е предложена от Kleihauer et al.[1] и по-късно е модифицирана от Shepard et al.[2] Получената Sigma представлява по-нататъшно подобрение на този подход, както е описано от Oski и Naiman.[3]

В случаи на Rh несъвместимост все по-често се потискат имунните реакции към червените кръвни клетки, влизащи в майчиното кръвообращение от плода. Количеството специфичен гама-глобулин, съдържащ анти-Rh(D), което трябва да се приложи, се изчислява чрез оценка на степента на фетално-майчиния кръвоизлив.[4]

Съгласно описаната техника кръвни натривки, които са правилно изсушени и фиксирани, се потапят в цитратен буфер с pH 3,3 при 37°C. Хемоглобин A при възрастни (HbA) се разтваря извън клетките, докато феталният хемоглобин (HbF), който е киселинноустойчив, остава вътреклетъчно и може да бъде оцветен за микроскопско изследване.

Реагенти

Концентрат на цитрат-фосфатен буфер (кат. № 2851)
Натриев цитрат, 0,7 mol/L, и натриев фосфат, 0,6 mol/L, добавен хлороформ като консервант

Киселинен хематоксилин разтвор (кат. № 2852)
Хематоксилин, сертифициран, 1 g/L, C.I. 75290, алуминиев амониев сулфат, натриеви йодати и стабилизатори, pH 3,3

Разтвор на еозин B (кат. № 2853)
Еозин B, 0,1%, воден разтвор, C.I. 45400. Натриев азид, 0,1%, добавен като консервант

Необходими специални материали, които не са осигурени

- Микроскоп
- Микроскопски предметни стъкла, покривни стъкла
- Стойка за оцветяване/буркани на Коплин
- Водна вана, 37°C
- Етанолов фиксатор (кат. № 2858) 80% v/v етилов алкохол

Съхранение и стабилност

Съхранявайте концентрата на цитрат-фосфатния буфер в хладилник (2 – 8°C). Изхвърлете, ако има доказателства за микробен растеж.

Съхранявайте разтвора на цитрат-фосфатния буфер в хладилник (2 – 8°C). Стабилен до 2 седмици. Използвайте прясна аликвотна част всеки ден. Изхвърлете, ако има доказателства за микробен растеж.

Съхранявайте киселинния хематоксилин разтвор и разтвора на еозин B при стайна температура (18 – 26°C). Разтворите може да се използват повторно, ако се съхраняват в плътно затворени буркани за оцветяване на приглушена светлина.

Етаноловият фиксатор трябва да се съхранява на стайна температура. Съхранявайте плътно затворен и като запалима течност. Разтворът може да се използва повторно, но трябва да се изхвърли, ако фиксацията не е подходяща.

Влошаване на качеството

Изхвърлете киселинния хематоксилин разтвор, когато времето, необходимо за подходящо оцветяване, надвиши 8 минути.

Подготовка

Разтворът на цитрат-фосфатен буфер се приготвя чрез разреждане на 1 обем концентрат на цитрат-фосфатен буфер с 9 обема вода.

Киселинният хематоксилин разтвор, разтворът на еозин B и етаноловият фиксатор са готови за употреба.

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 борави 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

Всички проби трябва да обозначат ясно посредством етикети. За вземането и подготовката на пробите трябва да се използват подходящи инструменти. Следвайте инструкциите за употреба на производителя.

Никой 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.

Може да се използва капилярна или венозна кръв. Капилярна кръв може да се прехвърли директно върху чисто микроскопско предметно стъкло. Венозна кръв трябва да се добави в епруветка, съдържаща EDTA или оксалат. За удобство използвайте 1 – 2 капки 2% разтвор на EDTA (кат. № 2854) на mL кръв (1 капка = 1 mg). Докладвано е, че смесите кръв-EDTA са задоволителни за употреба до 2 седмици, когато се съхраняват в хладилник.[2] Натривките трябва да се приготвят в рамките на 24 часа от взимането кръв в оксалат.[5] При използване на проби от новородено се препоръчва кръвта да се разреди с 0,85% физиологичен разтвор, тъй като такива образци имат високо съдържание на HbF. Кръвните натривки не са стабилни и трябва да се тестват веднага след приготвянето им.

Забележки

За целите на контрола на качеството се препоръчва във всяка серия от тестове да се включва кръв от нормален възрастен (HbA) и от новородено или бебе (HbF). Barr и Shafer[6] докладват, че фиксираните положителни контролни предметни стъкла с кръв от пъпна връв в EDTA могат да се съхраняват до 1 година при –20°C в запечатана картонена кутия. Въпреки това отрицателните контроли с EDTA не се елуират напълно след съхранение повече от 2 месеца при –20°C. Тези изследователи предлагат да се приготвят положителни и отрицателни натривки върху едно и също предметно стъкло. По този начин се осигуряват ясни и бързи контрасти като референция при отчитане на тестови предметни стъкла.

Нормални диапазони[7]

Възраст	Фетален хемоглобин (%)
При раждане	50 – 90
< 2 години	0 – 4
> 2 години	0 – 2

Процедура

1. Разтворът на цитрат-фосфатен буфер трябва да се затопли до 37°C в буркан на Коплин или съд за оцветяване.
2. Като използвате чисти етикетирани микроскопски предметни стъкла, направете тънки кръвни натривки. Пригответе КОНТРОЛНИ предметни стъкла, като използвате положителна HbF кръв (кръв от пъпна връв) и нормална кръв на възрастен. Изсушете на въздух за приблизително 10 минути.
3. Фиксирайте предметните стъкла, като ги потопите в етанолов фиксатор за 5 минути, изплакнете обилно с чешмяна вода и изсушете на въздух.
4. Потопете ТЕСТОВИТЕ и КОНТРОЛНИТЕ предметни стъкла в предварително затоплен разтвор на цитрат-фосфатен буфер при 37°C за 5 минути. Разбъркайте след 1 и 3 минути потапяне. Степента на разбъркване може да варира за постигане на най-желаните резултати. Изплакнете обилно с дестилирана вода и изсушете **напълно** на въздух, за да избегнете артефакти от оцветяване.
5. Оцветете предметните стъкла за 3 минути в киселинен хематоксилин разтвор. Изплакнете предметните стъкла обилно с дестилирана вода и изтръскайте излишната вода.
6. Оцветете контрастно предметните стъкла за 4 минути в 0,1% разтвор на еозин B. Изплакнете обилно с дестилирана вода и изсушете на въздух.
7. Поставете **сухо** покривно стъкло върху предметното стъкло и го изследвайте под маслена имерсия (1000X). Липсата на HbF се вижда от наличието на фантомни клетки, докато задържаният HbF кара клетките да изглеждат яркочервени. **Не** нанасяйте масло директно върху предметното стъкло. (**Забележка**: Може да се използва увеличение 400X, но полученото по-голямо поле може да е по-трудно за отчитане.)

Работни характеристики

Дялът на еритроцитите, съдържащи фетален хемоглобин, може да се оцени по няколко начина. При изследване на доказателства за клетки, съдържащи HbF, в майчината кръв Oski и Naiman[3] препоръчват следното:

1. Отчетете общия брой еритроцити в 5 полета и определете средния брой на поле.
2. Отчетете броя на дълбоко оцветените еритроцити, съдържащи HbF, в около 30 полета и определете средния брой на поле.
3. Изчислете процента на еритроцитите с HbF въз основа на общия брой еритроцити на поле.

Резултатите се представят като процент наличен HbF.

Според Oski и Naiman[3] този метод е способен да открие едва 0,1 mL фетална кръв в майчиното кръвообращение.

Ако наблюдаваните резултати се различават 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	Специфичност в рамките на анализа	Чувствителност в рамките на анализа	Специфичност между анализите	Чувствителност между анализите
2851	Концентрат на цитрат-фосфатен буфер	Фетален хемоглобин	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
2852	Киселинен хематоксилин разтвор	Ядра	3 от 3	3 от 3	3 от 3	3 от 3
2853	Разтвор на еозин B	Фетален хемоглобин	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.

285C, 285D:

H319 Предизвиква сериозно дразнене на очите.

H350 Може да причини рак.

P201 Преди употреба се снабдете със специални инструкции.

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

P264 Да се измие кожата старателно след употреба.

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

P280 Използвайте предпазни очила/предпазна маска за лице.

P305 + P351 + P338 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.

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

P337 + P313 При продължително дразнене на очите: Потърсете медицински съвет/помощ.

P405 Да се съхранява под ключ.

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	REF	Каталожен номер
	Вижте инструкциите за употреба	LOT	Код на партида
EC REP	Упълномощен представител в Европейската общност/ Европейския съюз	CE	Декларация за съответствие на Европейския съюз (дефинирана в IVDR 2017/746)
	Дата на срок на годност	IVD	Медицинско изделие за *in vitro* диагностика
	Температурна граница		Внимание
	Дата на производство		Вносител
CH REP	Указва упълномощения представител в Швейцария		

Референции

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

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. 4.0	2014 г.
Ред. 5.0	2016 г.
Ред. 6.0	2023 г. Прехвърлено на нов шаблон с текущо брандиране. 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. Обновени литературни референции. Добавена таблица с хронология на редакциите. Добавени предупреждения и опасности. Добавена информация за CH-REP.
Ред. 7.0	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

EC REP MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP 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.

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

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

Lietošanas pamācība

Fetal Hemoglobin Kit

Procedūra Nr. 285

IVD CE

Paredzētais lietojums

Fetal Hemoglobin reaģentus paredzēts izmantot kā vispārēju laboratorijas histoķīmisko krāsvielu fetālā hemoglobīna skābes elūcijas noteikšanai asins uztriepēs. Fetal Hemoglobin krāsvielas reaģenti ir paredzēti "*in vitro* diagnostikai". Tikai profesionālai lietošanai. Šī manuālā semikvantitatīvā procedūra ļauj noteikt fetālo hemoglobīnu cilvēka asins uztriepju paraugu eritrocītos.

Proteīnu izolācijas un raksturošanas paņēmienu attīstība ir ļāvusi atklāt, ka ir vairākas specifiskas īpašības, kas ļauj nošķirt fetālo hemoglobīnu no pieaugušo hemoglobīna. Tas cita starpā ietver fetālā hemoglobīna (hemoglobīna F) rezistenci pret skābes elūciju. Kad asins uztriepes ievieto skābes buferī, piemēram, pieaugušo hemoglobīns izdalās no eritrocītiem, bet fetālais hemoglobīns — nē. Ja asins uztriepes apstrādā šādā veidā un pēc tam iekrāso, eritrocīti ar hemoglobīnu F iekrāsojas, bet tie, kas satur tikai pieaugušo hemoglobīnu, izskatās kā "tukši".

Priekšmetstikliņu paņēmienu fetālā hemoglobīna norādīšanai, izmantojot rezistenci pret skābes elūciju, sākotnēji piedāvāja *Kleihauer et al.*,[1] un vēlāk mainīja *Shepard et al.*[2]. *Sigma* vēl vairāk uzlabo šo pieeju, kā aprakstījuši *Oski* un *Naiman*[3].

Rh nesaderības gadījumos aizvien biežāk novēro imūnreakcijas supresiju pret sarkanajām asins šūnām, kas nonāk mātes asinsritē no augļa. Specifiskā gamma globulīna daudzumu, kas satur ievadāmo anti Rh(D), aprēķina, novērtējot augļa un mātes asiņošanas pakāpi[4].

Saskaņā ar aprakstīto paņēmienu pareizi izžāvētas un fiksētas asins uztriepes iegremdē citrāta buferī ar pH 3,3 37 °C temperatūrā. Pieaugušo hemoglobīns A (HbA) izskalojas no šūnām (HbF), bet fetālais hemoglobīns (HbF), kas ir noturīgs pret skābi, paliek šūnā un to var iekrāsot izmeklēšanai ar mikroskopu.

Reaģenti

Citrate Phosphate Buffer Concentrate (kat. Nr. 2851)
Nātrija citrāts, 0,7 mol/l, un nātrija fosfāts, 0,6 mol/l, hloroformu pievieno kā konservantu

Acid Hematoxylin Solution (kat. Nr. 2852)

Hematoksilīns, sertificēts, 1 g/l, C.I. 75290, alumīnija amonija sulfāts, nātrija jodāti un stabilizatori, pH 3,3

Eosin B Solution (kat. Nr. 2853)
Eosin B, 0.1%, ūdens šķīdums, C.I. 45400. Nātrija azīds, 0,1 %, pievieno kā konservantu

Speciāli nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie materiāli

- Mikroskops
- Mikroskopa priekšmetstikliņi, noslēgstikliņi
- Iekrāsošanas statīvs / Koplina trauki
- Ūdens vanniņa, 37 °C
- Ethanol Fixative (kat. Nr. 2858) 80 % v/v etilspirts

Uzglabāšana un stabilitāte

Uzglabājiet Citrate Phosphate Buffer Concentrate ledusskapī (2–8 °C). Izmetiet, ja ir pierādījumi par mikrobu augšanu.

Uzglabājiet Citrate Phosphate Buffer Solution ledusskapī (2–8 °C). Stabils 2 nedēļas. Katru dienu izmantojiet jaunu alikvotu. Izmetiet, ja ir pierādījumi par mikrobu augšanu.

Uzglabājiet Acid Hematoxylin Solution un Eosin B Solution istabas temperatūrā (18–26 °C). Šķīdumus var izmantot atkārtoti, ja tos uzglabā cieši noslēgtos traukos aptumšotā vietā.

Ethanol Fixative jāuzglabā istabas temperatūrā. Uzglabājiet cieši noslēgtu un kā viegli degošu šķidrumu. Šķīdumu var izmantot atkārtoti, bet tas jāizmet, ja fiksācija nav pietiekama.

Sabojāšanās

Izmetiet Acid Hematoxylin Solution, kad atbilstošai iekrāsošanai nepieciešamais laiks pārsniedz 8 minūtes.

Sagatavošana

Citrate Phosphate Buffer Solution sagatavo, atšķaidot 1 daļu Citrate Phosphate Buffer Concentrate ar 9 daļām ūdens.

Acid Hematoxylin Solution, Eosin B Solution un Ethanol Fixative ir gatavi lietošanai.

Piesardzības pasākumi

Šīs IVD ir paredzēts lietot *in vitro* diagnostikai klīniskās laboratorijas vidē. Šīs IVD ir paredzētas 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

Visiem paraugiem jābūt skaidri marķētiem. Lai iegūtu un sagatavotu paraugus, jāizmanto piemēroti instrumenti. Ievērojiet ražotāja lietošanas instrukciju.

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 kapilārās vai venozās asinis. Kapilāru asinis var tieši pārnest uz tīru mikroskopa priekšmetstikliņu. Venozās asinis jāiepilda stobriņā ar EDTA vai oksalātu. Ērtības labad izmantojiet 1–2 pilienus 2 % EDTA Solution (kat. Nr. 2854) uz katru ml asiņu (1 piliens = 1 mg). Lai gan ir ziņots, ka asins un EDTA maisījumus var izmantot līdz 2 nedēļas, ja tos uzglabā ledusskapī[2]. Uztriepes jāsagatavo 24 stundu laikā pēc asins paņemšanas oksalātā[5]. Izmantojot jaundzimušo paraugus, ieteicams asinis atšķaidīt ar 0,85 % fizioloģisko šķīdumu, jo šādos paraugos ir liels HbF saturs. Asins uztriepes nav stabilas, un tās ir jātestē uzreiz pēc sagatavošanas.

Piezīmes

Kvalitātes kontroles nolūkos ieteicams asinis no normāliem pieaugušajiem (HbA) un no jaundzimušajiem vai zīdaiņiem (HbF) iekļaut katrā testu sērijā. *Barr* un *Shafer*[6] ziņo, ka fiksētus pozitīvus kontroles priekšmetstikliņus no nabassaites asinīm EDTA var saglabāt līdz 1 gadam −20 °C temperatūrā, ievietojot noslēgtā kartona kastē. Tomēr EDTA negatīvās kontroles pilnībā neizdalās pēc uzglabāšanas ilgāk nekā 2 mēnešus −20 °C temperatūrā. Šie pētnieki norāda, ka pozitīvās un negatīvās uztriepes būtu jāsagatavo uz tā paša priekšmetstikliņa, tādējādi ātri un skaidri parādot kontrastu kā atsauci testa priekšmetstikliņu nolasīšanas laikā.

Normāli diapazoni[7]

Vecums	Fetālais hemoglobīns (%)
Dzimšanas laikā	50–90
<2 gadi	0–4
>2 gadi	0–2

Procedūra

1. Citrate Phosphate Buffer Solution jāsasilda 37 °C temperatūrā Koplina traukā vai iekrāsošanas traukā.
2. Izmantojiet tīrus, marķētus mikroskopa priekšmetstikliņus, sagatavojiet plānas asins uztriepes. Sagatavojiet KONTROLES priekšmetstikliņus, izmantojot pozitīvas HbF asinis (nabassaites asinis) un normālas pieaugušo asinis. Nožāvējiet gaisā aptuveni 10 minūtes.
3. Fiksējiet priekšmetstikliņus Ethanol Fixative 5 minūtes, rūpīgi noskalojiet ar krāna ūdeni un nožāvējiet.
4. Iegremdējiet TESTA un KONTROLES priekšmetstikliņus iepriekš uzsildītā Citrate Phosphate Buffer Solution uz 5 minūtēm 37 °C temperatūrā. Saskaliniet 1 un 3 minūtes pēc iegremdēšanas. Skalināšanas pakāpe var mainīties, lai panāktu vēlamos rezultātus. Rūpīgi noskalojiet ar destilētu ūdeni un **pilnībā** nožāvējiet, lai izvairītos no iekrāsošanas artefaktiem.
5. 3 minūtes iekrāsojiet priekšmetstikliņus Acid Hematoxylin Solution. Rūpīgi noskalojiet ar destilētu ūdeni un nokratiet lieko ūdeni.
6. Veiciet priekšmetstikliņu kontrastējošo iekrāsošanu 4 minūtes 0,1% Eosin B Solution. Rūpīgi noskalojiet ar destilētu ūdeni un nožāvējiet gaisā.
7. Novietojiet **sausu** segstikliņu uz priekšmetstikliņa un izmeklējiet, izmantojot iegremdēšanu eļļā (1000X). HbF trūkumu apliecina "tukšo" šūnu klātbūtne, bet atlikušais HbF liek šūnām izskatīties košu sarkanām. **Neuzklājiet** eļļu tieši uz priekšmetstikliņa (**Piezīme.** Var izmantot 400X palielinājumu, bet iegūtajā lielākajā laukā var būt grūti veikts skaitīšanu).

Veiktspējas raksturlielumi

To eritrocītu daudzumu, kas satur fetālo hemoglobīnu, var noteikt vairākos veidos. Pētot mātes asinis, lai noteiktu HbF saturošu šūnu klātbūtni, *Oski* un *Naiman*[3] ieteica tālāk norādīto:

1. Saskaitiet kopējo eritrocītu skaitu 5 laukos un nosakiet lauka vidējo skaitu.
2. Saskaitiet dziļi iekrāsoto eritrocītu, kas satur HbF, kopējo eritrocītu skaitu aptuveni 30 laukos un nosakiet lauka vidējo skaitu.
3. Aprēķiniet HbF eritrocītu procentuālo daudzumu, pamatojoties uz eritrocītu kopējo skaitu laukā.

Rezultātus ziņo kā klātesošā HbF procentuālo daudzumu.

Saskaņā ar *Oski* un *Naiman* norādīto[3] šī metode spēj noteikt pat 0,1 ml fetālo asiņu mātes asinsritē.

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
2851	Citrate Phosphate Buffer Concentrate	Fetal Hemaglobin	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
2852	Acid Hematoxylin Solution	Kodoli	3 no 3	3 no 3	3 no 3	3 no 3
2853	Eosin B Solution	Fetal Hemaglobin	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.

285C, 285D:

H319 Izraisa nopietnu acu kairinājumu.

H350 Var izraisīt vēzi.

P201 Pirms lietošanas saņemt speciālu instruktāžu.

P202 Neizmantot pirms nav izlasīti un saprasti visi brīdinājumi.

P264 Pēc izmantošanas kārtīgi nomazgāt ādu.

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

P280 Izmantot acu aizsargus / sejas aizsargus.

P305 + P351 + P338 SASKARĒ AR ACĪM: Uzmanīgi skalot ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemt kontaktlēcas, ja tās ir ievietotas un ja to var vienkārši izdarīt. Turpināt skalot.

P308 + P313 Ja nokļūst saskarē vai saistīts ar to: lūdziet mediķu palīdzību.

P337 + P313 Ja acu kairinājums nepāriet: Lūdziet mediķu palīdzību.

P405 Glabāt slēgtā veidā.

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	REF	Kataloga numurs
	Skatīt lietošanas instrukciju	LOT	Partijas kods
EC REP	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Eiropas Savienībā	CE	Eiropas Savienības atbilstības deklarācija (definēta IVDR 2017/746)
	Derīguma termiņš	IVD	Medicīniska ierīce *in vitro* diagnostikai
	Temperatūras ierobežojums		Uzmanību!
	Izgatavošanas datums		Importētājs

CH REP Norāda pilnvaroto pārstāvi Šveicē

Atsauces

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

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. 4.0	2014
Vers. 5.0	2016
Vers. 6.0	2023 Pāreja uz jaunu veidni ar pašreizējo zīmola identitāti. Sadaļā 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. Atjauninātas literatūras atsauces. Pievienota tabula ar pārskatīto izdevumu vēsturi. Pievienota sadaļa "Brīdinājumi un riski". Pievienota CH-REP informācija.
Vers. 7.0	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

EC REP MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

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

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

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

Naudojimo instrukcija

Vaisiaus hemoglobino rinkinys

Procedūros Nr. 285

IVD CE

Paskirtis

Vaisiaus hemoglobino reagentai skirti naudoti kaip bendri laboratoriniai histocheminiai dažai, skirti vaisiaus hemoglobino rūgštiniam eliuavimui kraujo tepinėliuose nustatyti. Vaisiaus hemoglobino dažymo reagentai skirti naudoti *in vitro diagnostikai*. Tik profesionaliam naudojimui. Ši rankinė, pusiau kiekybinė procedūra aptinka vaisiaus hemoglobiną žmogaus kraujo tepinėlių mėginių eritrocituose.

Pažangūs baltymų išskyrimo ir apibūdinimo metodai leido atrasti, kad yra keletas skiriamųjų savybių, leidžiančių atskirti vaisiaus hemoglobiną nuo suaugusiojo. Tarp jų yra vaisiaus hemoglobino (hemoglobino F) atsparumas rūgšties eliuavimui. Pavyzdžiui, kai kraujo tepinėliai panardinami į rūgštinį buferį, suaugusiųjų hemoglobinas išplaunamas iš eritrocitų, o vaisiaus hemoglobinas - ne. Jei kraujo tepinėliai apdorojami tokiu būdu ir vėliau nudažomi, eritrocitai, turintys hemoglobino F, paima dėmę, o tie, kuriuose yra tik suaugusiųjų hemoglobino, atrodo kaip „vaiduokliai".

Skaidrių metodą, skirtą parodyti vaisiaus hemoglobino atsparumą rūgščių eliucijai, iš pradžių pasiūlė Kleihauer et al.,[1] o vėliau modifikavo Shepard et al.[2] Pagaminta Sigma yra tolesnis šio metodo tobulinimas, kaip aprašė Oski ir Naiman.[3]

Rh nesuderinamumo atvejais vis dažniau slopinamos imuninės reakcijos į raudonuosius kraujo kūnelius, patenkančius į motinos kraujotaką iš vaisiaus. Konkretaus skirtino gama globulino, turinčio anti Rh(D), kiekis apskaičiuojamas įvertinant vaisiaus ir motinos hemoragijos dydį.[4]

Pagal aprašytą techniką kraujo tepinėliai, kurie buvo tinkamai išdžiovinti ir pritvirtinti, panardinami į citratinį buferinį tirpalą pH 3,3 37 °C temperatūroje. Suaugusiųjų hemoglobinas A (HbA) ištirpsta iš ląstelių, o vaisiaus hemoglobinas (HbF), kuris yra atsparus rūgštims, išlieka ląstelės viduje ir gali būti nudažytas mikroskopiniam tyrimui.

Reagentai

Citrato fosfato buferinio tirpalo koncentratas (kat. Nr. 2851)
Natrio citratas, 0,7 mol/l, ir natrio fosfatas, 0,6 mol/l, pridėtas chloroformas kaip konservantas

Rūgštinis hematoksilino tirpalas (kat. Nr. 2852)
Hematoksilinas, sertifikuotas, 1 g/l, C.I. 75290, aliuminio amonio sulfatas, natrio jodatai ir stabilizatoriai, pH 3,3

Eozino B tirpalas (kat. Nr. 2853)
Eozinas B, 0,1%, vandeninis tirpalas, C.I. 45400. Natrio azidas, 0,1%, pridėta kaip konservantas

Reikalingos, bet nepateikiamos specialios medžiagos

- Mikroskopas
- Mikroskopų šliaužikliai, dengiamieji šliaužikliai
- Dažymo stovas/Coplin stiklainiai
- Vandens vonelė, 37 °C
- Etanolio fiksatorius (kat. Nr. 2858) 80% v/v etilo alkoholio

Laikymas ir stabilumas

Citrato fosfato buferio koncentratą laikykite šaldytuve (2-8 °C). Išmeskite, jei yra mikrobų augimo požymių.

Citrato fosfato buferinį tirpalą laikykite šaldytuve (2-8 °C). Stabilus 2 savaites. Kiekvieną dieną naudokite šviežią alikvotinę dalį. Išmeskite, jei yra mikrobų augimo požymių.

Rūgštinį hematoksilino tirpalą ir eozino B tirpalą laikykite kambario temperatūroje (18-26 °C). Tirpalus galima naudoti pakartotinai, jei jie laikomi sandariai uždarytuose dažymo indeliuose, kuriuose yra silpnas apšvietimas.

Etanolio fiksatorius turi būti laikomas kambario temperatūroje. Laikykite sandariai uždarytą ir kaip degų skystį. Tirpalą galima naudoti pakartotinai, tačiau, jei fiksavimas netinkamas, jį reikia išmesti.

Irimas

Išmeskite rūgštinį hematoksilino tirpalą, kai laikas, reikalingas tinkamam dažymui, viršija 8 minutes.

Pasiruošimas

Citrato fosfato buferinis tirpalas ruošiamas skiedžiant 1 tūrį citrato fosfato buferinio tirpalo koncentrato su 9 tūriais vandens.

Rūgštinis hematoksilino tirpalas, eozino B tirpalas ir etanolio fiksatorius yra paruošti naudoti.

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 kitą 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

Visi mėginiai turi būti aiškiai paženklinti. Mėginiams gauti ir paruošti turi būti naudojami tinkami instrumentai. Laikykitės gamintojo naudojimo instrukcijų.

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.

Galima naudoti kapiliarinį arba veninį kraują. Kapiliarinis kraujas gali būti perkeltas tiesiai į švarų mikroskopo stiklelį. Į mėgintuvėlį, kuriame yra EDTA arba oksalato, reikia įpilti veninio kraujo. Kad būtų patogiau, naudokite 1-2 lašus 2% EDTA tirpalo (kat. Nr. 2854) 1 ml kraujo (1 lašas = 1 mg). Nors pranešta, kad kraujo ir EDTA mišiniai yra tinkami naudoti iki 2 savaičių laikant šaldytuve.[2] Tepinėlius reikia paruošti per 24 valandas nuo kraujo paėmimo oksalate.[5] Naudojant naujagimio mėginius, kraują rekomenduojama atskiesti 0,85% fiziologiniu tirpalu, nes tokiuose mėginiuose yra didelis HbF kiekis. Kraujo tepinėliai nėra stabilūs ir turi būti tiriami iš karto po paruošimo.

Pastabos

Kokybės kontrolės tikslais rekomenduojama į kiekvieną tyrimų seriją įtraukti normalaus suaugusiojo (HbA) ir naujagimio ar kūdikio (HbF) kraują. Barr ir Shafer[6] praneša, kad EDTA fiksuoti teigiami kontroliniai stikleliai iš virkštelės kraujo gali būti saugomi iki 1 metų -20 °C temperatūroje, sandarioje kartoninėje dėžutėje. Tačiau EDTA neigiamos kontrolinės medžiagos visiškai neišplaunamos po to, kai laikomos ilgiau nei 2 mėnesius −20 °C temperatūroje. Šie tyrėjai siūlo paruošti teigiamus ir neigiamus tepinėlius ant tos pačios plokštelės; taip pateikiant aiškius ir greitus kontrastus, kaip nuorodą skaitymo testo plokštelėse.

Normalūs intervalai[7]

Amžius	Vaisiaus hemoglobinas (%)
Gimimo metu	50-90
< 2 metai	0-4
> 2 metai	0-2

Procedūra

1. Citrato fosfato buferinis tirpalas turi būti pašildytas iki 37 °C Coplin stiklainyje arba dažymo lėkštelėje.
2. Švariais, mikroskopu pažymėtais objektiniais stikleliais padarykite plonus kraujo tepinėlius. Paruoškite KONTROLINES plokšteles, naudodami teigiamą HbF kraują (virkštelės kraują) ir normalų suaugusiojo kraują. Džiovinkite oru maždaug 10 minučių.
3. Pritvirtinkite stiklelius panardindami juos į etanolio fiksatorių 5 minutėms, kruopščiai nuplaukite vandentiekio vandeniu ir išdžiovinkite ore.
4. Panardinkite TYRIMO ir KONTROLINES plokšteles į pašildytą citratinį fosfatinį buferinį tirpalą 37 °C temperatūroje 5 minutėms. Maišykite po 1 ir 3 minučių panardinimo. Maišymo laipsnis gali būti įvairus, kad būtų pasiekti labiausiai pageidaujami rezultatai. Kruopščiai išskalaukite distiliuotu vandeniu ir **visiškai** išdžiovinkite oru, kad išvengtumėte dėmių artefaktų.
5. Plokšteles 3 minutes dažykite rūgštiniu hematoksilino tirpalu. Kruopščiai nuplaukite stiklelius distiliuotu vandeniu ir nuplaukite vandens perteklių.
6. Kontrastinės skaidrės 4 minutes 0,1% eozino B tirpale. Kruopščiai išskalaukite distiliuotu vandeniu ir išdžiovinkite ore.
7. Uždėkite **sausą** dengiamąjį stiklelį ant stiklelio ir patikrinkite naudodami alyvos panardinimą (1000X). HbF nebuvimas yra akivaizdus dėl šešėlinių ląstelių buvimo, o išlaikius HbF ląstelės atrodo ryškiai raudonos. **Netepkite** tepalo tiesiai ant stiklelio. (**Pastaba**. Galima naudoti 400 kartų padidinimą, tačiau gali būti sunkiau suskaičiuoti gautą didesnį lauką.)

Veikimo charakteristikos

Eritrocitų, kuriuose yra vaisiaus hemoglobino, dalį galima apskaičiuoti keliais būdais. Tiriant motinos kraujo įrodymus apie ląsteles, kuriose yra HbF, Oski ir Naiman[3] rekomendavo:

1. Suskaičiuokite bendrą eritrocitų skaičių 5 laukuose ir nustatykite vidutinį skaičių viename lauke.
2. Suskaičiuokite giliai nudažytų HbF turinčių eritrocitų skaičių maždaug 30 laukų ir nustatykite vidutinį vieno lauko skaičių.
3. Apskaičiuokite HbF eritrocitų procentą pagal bendrą eritrocitų skaičių viename lauke.

Rezultatai pateikiami kaip esamo HbF procentas.

Pagal Oski ir Naiman[3] šis metodas gali aptikti vos 0,1 ml vaisiaus kraujo motinos kraujotakoje.

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
2851	Citrato fosfato buferinio tirpalo koncentratas	Vaisiaus hemaglobinas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
2852	Rūgštinis hematoksilino tirpalas	Branduoliai	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3
2853	Eozino B tirpalas	Vaisiaus hemaglobinas	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3	3 iš 3

Įspėjimai ir pavojai

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

285C, 285D:

H319 Sukelia smarkų akių dirginimą.

H350 Gali sukelti vėžį.

P201 Prieš naudodami gaukite specialias instrukcijas.

P202 Nenaudokite, kol neperskaitėte ir nesupratote visų saugos priemonių.

P264 Po naudojimo kruopščiai nuplaukite odą.

P280 Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių/veido apsaugos priemones.

P280 Dėvėti akių/ veido apsaugą.

P305 + P351 + P338 patekus Į AKIS Atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau skalauti.

P308 + P313 esant sąlyčiui arba susirūpinus Kreipkitės į gydytoją.

P337 + P313 Jei akių dirginimas nepraeina Kreipkitės į gydytoją.

P405 Laikyti užrakintą.

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	CONTROL	Katalogo numeris
	Žr. naudojimo instrukcijas	LOT	Partijos kodas
EC REP	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje	CE	Europos Sąjungos atitikties deklaracija (apibrėžta IVDR 2017/746)
	Galiojimo data	IVD	*In vitro* diagnostikos medicinos prietaisas
	Temperatūros riba		Atsargiai
	Pagaminimo data		Importuotojas
CH REP	Nurodo įgaliotąjį atstovą Šveicarijoje		

Šaltiniai

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktinė informacija

Norėdami pateikti užsakymą, apsilankykite mūsų svetainėje SigmaAldrich.com. Dėl techninės priežiūros apsilankykite techninės priežiūros puslapyje mūsų svetainėje SigmaAldrich.com/techservice.

Peržiūrų istorija

4.0 red.	2014
5.0 red.	2016
6.0 red.	2023 Perkelta į naują šabloną su dabartiniu prekės ženklu. Skirta profesionaliam naudojimui pagal paskirtį ir taikomas atsargumo priemones. 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. Atnaujintos literatūros nuorodos. Pridėta peržiūrų istorijos lentelė. Pridėti įspėjimai ir pavojai. Pridėta atstovo Šveicarijoje informacija.
7.0 red.	2025 Atnaujinta SDL 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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

Sigma - Aldrich
Chemie GmbH
Industriestraße 25
CH-9470 Buchs

Inicialas „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.

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

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

Návod na použitie

Súprava pre fetálny hemoglobín

Postup č. 285

IVD CE

Určené použitie

Reagencie na fetálny hemoglobín sú určené na použitie ako všeobecné laboratórne histochemické farbivo na stanovenie fetálneho hemoglobínu v krvných náteroch kyslou elúciou. Reagencie na farbenie fetálneho hemoglobínu sú určené na „diagnostické použitie *in vitro*". Len na odborné použitie. Týmto manuálnym semikvantitatívnym postupom sa deteguje fetálny hemoglobín v erytrocytoch vzoriek ľudských krvných náterov.

Pokrok v technikách izolácie a charakterizácie proteínov viedol k zisteniu, že existuje niekoľko rozlišovacích vlastností, ktoré umožňujú odlíšiť fetálny hemoglobín od hemoglobínu dospelých. Medzi ne patrí odolnosť fetálneho hemoglobínu (hemoglobín F) voči kyslej elúcii. Napríklad pri ponorení krvného náteru do kyslého pufru sa dospelý hemoglobín z erytrocytov eluuje, zatiaľ čo fetálny hemoglobín nie. Ak sa krvné nátery takto spracujú a následne zafarbia, erytrocyty obsahujúce hemoglobín F sa zafarbia, zatiaľ čo tie, ktoré obsahujú len dospelý hemoglobín, sa budú javiť ako „duchovia".

Techniku s použitím sklíčok na preukázanie fetálneho hemoglobínu z hľadiska jeho odolnosti voči kyslej elúcii pôvodne navrhli Kleihauer a spol.[1] a neskôr ju modifikovali Shepard a spol.[2] Produkt spoločnosti Sigma predstavuje ďalšie zlepšenie tohto prístupu, ako ho opísali Oski a Naiman.[3]

V prípadoch Rh inkompatibility sa čoraz častejšie vyskytuje potlačenie imunitných reakcií na červené krvinky, ktoré sa dostávajú z plodu do krvného obehu matky. Množstvo špecifického gama globulínu obsahujúceho anti Rh(D), ktoré sa má podať, sa vypočíta na základe posúdenia závažnosti krvácania plodu a matky.[4]

Podľa opísanej techniky sa krvné nátery, ktoré boli riadne vysušené a fixované, ponoria do citrátového pufru s pH 3,3 pri teplote 37 °C. Dospelý hemoglobín A (HbA) sa rozpustí z buniek, zatiaľ čo fetálny hemoglobín (HbF), ktorý je odolný voči kyselinám, zostáva vnútri buniek a môže sa farbiť na mikroskopické vyšetrenie.

Reagencie

Koncentrát citrát-fosfátového pufru (kat. č. 2851)
Citran sodný, 0,7 mol/l, a fosforečnan sodný, 0,6 mol/l, chloroform pridaný ako konzervačná látka

Roztok kyslého hematoxylínu (kat. č. 2852)

Hematoxylín, certifikovaný, 1 g/l, C.I. 75290, síran hlinito-amónny, jodičnany sodné a stabilizátory, pH 3,3

Roztok eozínu B (kat. č. 2853)
Eozín B, 0,1 %, vodný roztok, C.I. 45400. Azid sodný, 0,1 %, pridaný ako konzervačná látka

Potrebné špeciálne materiály, ktoré však nie sú súčasťou balenia

- Mikroskop
- Mikroskopické sklíčka, krycie sklíčka
- Stojan na farbenie/Coplinove nádoby
- Vodný kúpeľ, 37 °C
- Etanolový fixačný prostriedok (kat. č. 2858) 80 % obj./obj. etylalkohol

Skladovanie a stabilita

Koncentrát citrát-fosfátového pufru uchovávajte v chladničke (2 – 8 °C). Ak sa objavia známky mikrobiálneho rastu, zlikvidujte ho.

Roztok citrát-fosfátového pufru uchovávajte v chladničke (2 – 8 °C). Stabilný 2 týždne. Každý deň použite čerstvú alikvotnú časť. Ak sa objavia známky mikrobiálneho rastu, zlikvidujte ho.

Roztok kyslého hematoxylínu a roztok eozínu B uchovávajte pri izbovej teplote (18 – 26 °C). Roztoky sa môžu použiť opakovane, ak sa uchovávajú v tesne uzavretých nádobách na farbenie pri tlmenom osvetlení.

Etanolový fixačný prostriedok sa má uchovávať pri izbovej teplote. Uchovávajte ho tesne uzavretý a ako horľavú kvapalinu. Roztok sa môže použiť opakovane, ale ak fixácia nie je dostatočná, je potrebné ho zlikvidovať.

Zhoršenie kvality

Roztok kyslého hematoxylínu zlikvidujte, ak čas potrebný na vhodné zafarbenie presiahne 8 minút.

Príprava

Roztok citrát-fosfátového pufru sa pripraví zriedením 1 objemu koncentrovaného citrát-fosfátového pufru s 9 objemami vody.

Roztok kyslého hematoxylínu, roztok eozínu B a etanolový fixačný prostriedok sú pripravené na použitie.

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 činidlami. Odpad likvidujte v súlade so všetkými miestnymi, štátnymi, provinčnými alebo národnými predpismi.

Postup

Odber vzorky

Všetky vzorky musia byť jasne označené. Na odber a prípravu vzoriek sa musia používať vhodné prístroje. Postupujte podľa návodu na použitie od výrobcu.

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.

Môže sa použiť kapilárna alebo venózna krv. Kapilárnu krv možno preniesť priamo na čisté mikroskopické sklíčko. Venózna krv by sa mala pridať do skúmavky obsahujúcej EDTA alebo oxalát. Pre pohodlné použitie použite 1 – 2 kvapky 2 % roztoku EDTA (kat. č. 2854) na 1 ml krvi (1 kvapka = 1 mg). Uvádza sa, že zmesi krvi a EDTA sú vyhovujúce na použitie až do 2 týždňov, ak sa uchovávajú v chladničke.[2] Nátery z krvi odobratej do oxalátu by sa mali pripraviť do 24 hodín.[5] Pri použití vzoriek od novorodencov sa odporúča zriediť krv 0,85 % fyziologickým roztokom, pretože takéto vzorky majú vysoký obsah HbF. Krvné nátery nie sú stabilné a musia sa testovať ihneď po príprave.

Poznámky

Na účely kontroly kvality sa odporúča, aby sa do každej série testov zahrnula krv normálneho dospelého (HbA) a novorodenca alebo dojčaťa (HbF). Barr a Shafer[6] uvádzajú, že fixované pozitívne kontrolné sklíčka z pupočníkovej krvi v EDTA sa môžu uchovávať až 1 rok pri teplote -20 °C v uzavretej kartónovej škatuli. Negatívne kontroly EDTA sa však po uchovávaní po dobu dlhšiu ako 2 mesiace pri teplote -20 °C úplne neeluujú. Títo výskumníci navrhujú pripraviť pozitívne a negatívne nátery na tom istom sklíčku, čím sa zabezpečí jasný a rýchly kontrast ako referencia pri čítaní testovacích sklíčok.

Normálne rozsahy[7]

Vek	Fetálny hemoglobín (%)
Pri narodení	50 – 90
< 2 roky	0 – 4
> 2 roky	0 – 2

Postup

1. Roztok citrát-fosfátového pufru je potrebné zohriať na teplotu 37 °C v Coplinovej nádobe alebo farbiacej miske.
2. S použitím čistých, označených mikroskopických sklíčok urobte tenké krvné nátery. Pripravte kontrolné sklíčka s použitím HbF pozitívnej krvi (pupočníková krv) a normálnej krvi dospelých. Sušte na vzduchu približne 10 minút.
3. Sklíčka fixujte ponorením do etanolového fixačného prostriedku na 5 minút, dôkladne opláchnite vodou z vodovodu a vysušte na vzduchu.
4. TESTOVACIE a KONTROLNÉ sklíčka ponorte na 5 minút do predhriateho roztoku citrát-fosfátového pufru pri teplote 37 °C. Po 1 a 3 minútach ponorenia pretrepte. Stupeň pretrepania je možné meniť, aby sa dosiahli čo najlepšie výsledky. Dôkladne opláchnite destilovanou vodou a **úplne** vysušte na vzduchu, aby ste predišli vzniku farbiacich artefaktov.
5. Farbite sklíčka 3 minúty v roztoku kyslého hematoxylínu. Dôkladne opláchnite sklíčka destilovanou vodou a otrepte z nich prebytočnú vodu.
6. Sklíčka kontrastne farbite 4 minúty v 0,1 % roztoku eozínu B. Dôkladne opláchnite destilovanou vodou a vysušte na vzduchu.
7. Na sklíčko položte **suché** krycie sklíčko a preskúmajte ho pomocou olejovej imerzie (1 000×). Neprítomnosť HbF je zrejmá z prítomnosti stínových buniek (duchov), zatiaľ čo zachovaný HbF spôsobuje, že bunky vyzerajú jasne červené. **Nenanášajte** olej priamo na sklíčko. (**Poznámka**: Môže sa použiť zväčšenie 400×, ale výsledné väčšie pole môže byť ťažšie spočítať.)

Vlastnosti výkonu

Podiel erytrocytov obsahujúcich fetálny hemoglobín je možné odhadnúť viacerými spôsobmi. Oski a Naiman[3] odporúčajú pri skúmaní dôkazov buniek obsahujúcich HbF v krvi matky nasledujúce:

1. Spočítať celkový počet erytrocytov v 5 poliach a určiť priemerný počet na jedno pole.
2. Spočítať počet hlboko zafarbených erytrocytov obsahujúcich HbF v približne 30 poliach a určiť priemerný počet na jedno pole.
3. Vypočítať percentuálny podiel erytrocytov s HbF na základe celkového počtu erytrocytov na jedno pole.

Výsledky sa uvádzajú ako percento prítomného HbF.

Podľa Oskiho a Naimana[3] je táto metóda schopná detegovať už 0,1 ml fetálnej krvi v krvnom obehu matky.

Ak sa pozorované výsledky líšia od očakávaných výsledkov, obráťte sa na technický servis spoločnosti Sigma-Aldrich a požiadajte 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
2851	Koncentrát citrát-fosfátového pufru	Fetálny hemoglobín	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
2852	Roztok kyslého hematoxylínu	Jadrá	3 z 3	3 z 3	3 z 3	3 z 3
2853	Roztok eozínu B	Fetálny hemoglobín	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.

285C, 285D:

H319 Spôsobuje vážne podráždenie očí.

H350 Môže spôsobiť rakovinu.

P201 Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.

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

P264 Po manipulácii starostlivo umyte pokožku.

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

P280 Noste ochranné okuliare/ochranu tváre.

P305 + P351 + P338 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

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

P337 + P313 Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

P405 Uchovávajte uzamknuté.

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	REF	Katalógové číslo
	Prečítajte si návod na použitie	LOT	Kód šarže
EC REP	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve/Európskej únii	CE	Vyhlásenie Európskej únie o zhode (definované v IVDR 2017/746)
	Dátum spotreby	IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*
	Hranica teploty		Upozornenie
	Dátum výroby		Dovozca
CH REP	Označuje autorizovaného zástupcu pre Švajčiarsko		

Odkazy

1. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutausstrichs [Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear]. Klin Wochenschr. 1957 Jun 15; **35(12)**:637-8. German. doi: 10.1007/BF01481043. PMID: 13450287.
2. Shepard MK, Weatherall DJ, Conley CL: Semi-quantitative estimation of the distribution of fetal hemoglobin in red cell populations. Bull Johns Hopkins Hosp. **110**:293, 1962.
3. Oski FA, Naiman JL: Hematologic Problems in the Newborn, 2nd ed. Saunders, Philadelphia, 1972, pp. 62-63.
4. Technical Manual. American Association of Blood Banks, 9th ed. Arlington (VA), 1985, pp. 320-322.
5. Clayton EM, Feldhaus WD, Phythyon JM: The demonstration of fetal erythrocytes in the presence of adult blood cells. Am J Clin Pathol. **40**:487, 1963.
6. Barr JK, Shafer JA: Preparation and storage of control slides for fetal hemoglobin determination by acid elution. Am J Med Technol. **42**:54, 1976.
7. Seiverd CE: Hematology for Medical Technologist, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, pp 511-512

Kontaktné informácie

Ak chcete urobiť objednávku, navštívte našu webovú lokalitu na SigmaAldrich.com. Informácie o technickom servise nájdete na stránke technického servisu na našej webovej lokalite na SigmaAldrich.com/techservice.

História revízií

Rev. 4.0	2014
Rev. 5.0	2016
Rev. 6.0	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. Aktualizované odkazy na literatúru. Pridaná tabuľka histórie revízií Pridané upozornenia a nebezpečenstvá. Doplnené informácie o CH-REP.
Rev. 7.0	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

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

CH REP
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.

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

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