

FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Sigma-Aldrich Acid Phosphatase készlet leukociták savas foszfatáz aktivitásának citológiai bemutatására használandó kevés vér, csontvelő és szövet preparátumokból. Az Acid Phosphatase reagensek "in vitro diagnosztikai" használatra javallottak.

A szubsztituált naftol AS foszfátok diazónium-sókkal való használatáról a sav foszfatázok kimutatására humán leukocitákban először Goldberg és Barka számolt be. Az ilyen leukocita enzim kimutatására kifejlesztett Sigma-Aldrich eljárás a naftol AS-BI foszfát és a gyors gránát GBC só használatán alapul. Az utóbbi diazo-vegyületet azért választották ki, mivel gyorsan párosodik savas pH-n és nagyon oldhatatlan festék kicsapódást hoz létre. A borkóssavat azért adják hozzá, hogy bemutassák a borkónek ellenálló sav foszfatáz jelenlétét.

A Sigma-Aldrich eljárás szerint a vér hárttyákat egy naftol AS-BI foszforsavat és gyors gránát GBC-t tartalmazó oldatban inkubálják. A kettős hárttyákat borkó tartalmú szubsztitráttal kezelik. A Naftol AS-BI, mely enzimatis hidrolizissel szabadul fel, azonnal kapcsolódik a gyors gránát GBC-hez és oldhatatlan vöröses-barna festék lerakódást képez az aktivitás helyein. A borkóssavra érzékeny sav foszfatáz tartalmazó sejtek aktivitás nélküliek, mivel a borkóssavnak ellenálló foszfatáz tartalmazó mononukleáris sejtekre az ilyen kezelés nincs hatással.

REAGENSEK

CITRATE CONCENTRATE, Katalógus szám: 386-1

Citrát puffer, 0,38 mol/l, pH=5,4, ha az eljárás szerint hígítják.

TARTRATE SOLUTION, Katalógus szám: 386-2

L(+)-tartrát-puffer, 0,67 mol/l, pH=5,2, ha az eljárás szerint hígítják.

ACETATE SOLUTION, Katalógus szám: 386-3

Acetát puffer, 2,5 mol/l, pH=5,2, ha az eljárás szerint hígítják.

NAPHTHOL AS-BI PHOSPHORIC ACID SOLUTION, Katalógus szám: 386-4

Naftol AS-BI foszforsav, 12,5 mg/ml, N,N'-dimetil-formamidban.

FAST GARNET GBC SALT, Katalógus szám: 386-15

Gyors gránát GBC só, tisztított, 15 mg/kapszula.

ACID HEMATOXYLIN SOLUTION, Katalógus szám: 285-2

Hematoxilín, igazolt, 1 g/l, nátrium-jodát, alumínium-ammónium-szulfát és stabilizátor, pH=3,3 25 °C-on.

TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG

A Citrate Concentrate, Tartrate Solution és Acetate Solution hűtőszekrényben (2-8 °C)-on tárolandó. Ha zavarossá válik, meg kell semmisíteni.

A Fast Garnet GBC Salt és a Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution hűtőszekrényben (2-8 °C)-on tárolandó. A Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution színe halvány sárga és sötétsárga között változik. A reagensek a palackon feltüntetett lejárati dátumig felhasználhatók.

Az Acid Hematoxylin Solution szobahőmérsékleten (18-26 °C) tárolandó, amikor a megfelelő festéshez szükséges idő több, mint 5 perccel meghaladja az eljárásban javasolt időt.

A hígított citrát oldat megfelelően használható a látható mikrobás növekedés hiányakor. A citrát/acetone oldat szorosan lezárva tárolandó, ha nem használják. Naponta frissen készítenődik.

ELŐKÉSZÍTÉS:

A hígított citrát oldat úgy készítenődik, hogy 2,0 ml Citrate Concentrate-t (katalógus szám: 386-1) adnak 18,0 ml vízhez.

A citrát/acetone fixálószer úgy készítenődik, hogy 20,0 ml hígított citrát oldatot adnak 30,0 ml acetonehoz.

MEGJEGYZÉS: A Citrate/Acetone Solution szorosan lezárva tartandó, ha nem használják. Naponta frissen készítenődik.

ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumi reagensekkel történő munka során a szokásos övintézkedéseket be kell tartani. A hulladékokat az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével kell megsemmisíteni. A friss kockázati, veszély vagy biztonsági információk az anyagbiztonsági adatlapban találhatóak.

Az Amerikai Egyesült Államok kockázati és biztonsági mondatai

A Citrate Solution MARÓ. Égési sérülést okoz. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Tartrate Solution INGERLŐ. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot kell viselni.

Acetate Solution. Figyelmeztetés: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution MÉRGEZŐ. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. A születendő gyermekekre ártalmas lehet. A keletkező gőzt nem szabad belélegezni. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell

viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kerülni kell az expozíciót, - használatához külön utasítás szükséges.

A Fast Garnet GBC Salt MÉRGEZŐ. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! A keletkező port nem szabad belélegezni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kerülni kell az expozíciót - használat előtt szerezenek speciális utasításokat.

Az Acid Hematoxylin MÉRGEZŐ. Lenyelve mérgező (toxikus). Szem- és bőrizgató hatású, izgatja a légutakat! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Az acetone GYŰLÉKONY és INGERLŐ. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy repedezését okozhatja. Gőzei álmosságot és szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Célszervek: Máj és vesék.

Az Európai Unió kockázati és biztonsági mondatai

A Citrate Solution INGERLŐ. Szem- és bőrizgató hatású. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni.

A Tartrate Solution INGERLŐ. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot kell viselni.

Acetate Solution. Figyelmeztetés: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution MÉRGEZŐ. Belélegezve és bőrrel érintkezve ártalmas. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. A születendő gyermekekre ártalmas lehet. A keletkező gőzt nem szabad belélegezni. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kerülni kell az expozíciót, - használatához külön utasítás szükséges.

A Fast Garnet GBC Salt MÉRGEZŐ. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! A keletkező port nem szabad belélegezni. Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Kerülni kell az expozíciót - használat előtt szerezenek speciális utasításokat.

Az Acid Hematoxylin ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas.

Az acetone RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY és INGERLŐ. Rendkívül gyúlékony. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy repedezését okozhatja. Gőzei álmosságot és szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni!

ELJÁRÁS

MINTA BEGYŰJTÉSE:

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2. sz. NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmilyen ismert módszer nincs, mely teljesen biztosítja, hogy a vérminták vagy a szövet ne terjedjen fertőzést. Ezért, minden vér származékot vagy szövetet lehetségesen fertőzőnek kell tekinteni.

Kevés vér, csontvelő hárttya, szövet preparátum és citocentrifuga preparátumok használhatók. Az antikoaguláns lehet EDTA vagy heparin. A vér és csontvelő hárttyák szobahőmérsékleten (18-26 °C), fixálva több hétig tárolhatók vagy fixálás nélkül több napig anélkül, hogy az aktivitásukban észrevehető változás következne be.² Ne szállítsanak teljes vért más laboratóriumba vizsgálatra. Küldjenek fixált vagy nem fixált tárgylemezeket. Szállítás közben a tárgylemezek hűvösen tárolandók. Fixálás előtt hagyják a hárttyákat legalább 1 óráig száradni.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK:

Acetone, ACS Reagent
37 °C vízfürdő

MEGJEGYZÉSEK:

A vizsgálati teljesítmény egy egészséges egyénből származó vér hárttyával figyelhető meg. Borkóssav hiányában, az összes leukocita sarjadzó aktivitási helyeket mutat. Tartarátban inkubálva, véletlenszerű szemcse figyelhető meg a limfocitákban, de az összes egyéb normálisan előforduló sejt aktivitás nélküli.

Az ilyen eljárásból kapott adatok csak segítségként szolgálnak a diagnózishoz és egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell vizsgálni.

ELJÁRÁS:

Fixálás:

1. A tárgylemezt fixálják 30 másodpercig szobahőmérsékleten (18-26 °C) Citrate/Acetone Solution-ban.
2. Öblítsék a tárgylemezeket ioncserélt vízben és hagyják levegőn megszáradni legalább 15 percig.

Festés:

1. Két 100 ml-es főzőpoharat lássanak el A és B címkével és tegyék bele a következőket, majd mindig keverjék össze:

	A főzőpohár	B főzőpohár
Víz, előre, 37 °C-ra melegített	46,0 ml	44,0 ml
Acetate Solution, Katalógus szám: 386-3	2,0 ml	2,0 ml
Naphthol AS-BI Phosphoric Acid, Katalógus szám: 386-4	2,0 ml	2,0 ml
Tartrate Solution, Katalógus szám: 386-2	—	2,0 ml

2. Mindegyik főzőpohárba tegyenek 1 kapszulányi Fast Garnet GBC Salt-ot (Katalógus szám: 386-15). 30-60 másodpercig keverjék mágneses keverővel.
3. Gyorsan szűrjék le az oldatokat Whatman 54. sz. (vagy azzal ekvivalens) papíron külön címkével ellátott festőtégelybe.
4. A festőtégelyben lévő oldatokat melegítsék 37 °C-ra vízfürdőn. Ellenőrizték, hogy a hőmérséklet 37 °C-os legyen, mielőtt beleteszik a tárgylemezeket.
5. Helyezzenek legalább 2 kettős fixált vér hártát mindegyik tégelybe, mely a szűrt szubsztrát oldatot tartalmazza.
6. Inkubálják a tárgylemezeket legalább 1 óráig 37 °C-on sötétben.
7. Vegyék ki a tárgylemezeket és mossák ioncserélt vízben 3 percig.
8. Fessék 5 percig Acid Hematoxylin Solution-ban (katalógus szám: 285-2).
9. Öblítsék a tárgylemezeket ioncserélt vízben 3 percig és hagyják levegőn megszáradni.
10. Értékeljék mikroszkópiusan olajálló lencsékkel (900X). Oldószer alapú fedőmédiium használata nem javasolt, mivel halványíthatják a festést.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A festett vér hártákat általában szubjektíven értékeli ki, hogy a tartarát ellenálló enzim jelen van-e vagy sem. Borkósav hiányában, a legtöbb leukocita sarjadzó aktivitási helyeket mutat. Amikor tartaráttal inkubálják, véletlenszerű szemcse figyelhető meg a limfocitákban és néhány speciális makrofágban (pl. Gaucher féle sejt, hámsejtek és szőrös sejtek).³ Vérteltekben pozitív reakciót jegyeztek fel kettő vagy több diffúz és erős aktivitású sejtek jelenlétével, pl. több, mint 40 szemcse.³ A Golgi festés, a csecsemőmirigyből származó limfociták (T-sejtek) értékeléséhez, a 181. sz. Sigma-Aldrich eljárás javasolt.⁴

Az Acid Phosphatase aktivitás bíbor-sötétvörös szemcsék formájában jelenik meg a legtöbb leukocita citoplazmájában.

Az ilyen eljárásból kapott adatok csak segítségként szolgálnak a diagnózishoz és egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell vizsgálni.



Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várt eredményektől, kérjük, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma-Aldrich műszaki szolgálatával.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Goldberg AF, Barka T: Acid phosphatase activity in human blood cells. Nature 189:297, 1962
2. Janckila A, Li CY et al: The cytochemistry of the tartrate-resistant acid phosphatase-technical considerations. Am J Clin Pathol 70:45, 1978
3. Sun T: Atlas of Cytochemistry and Immunocytochemistry of Hematologic Neoplasms. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1985, pp 28, 119
4. Starkweather WH, Small GJ, Hill Sk: A systematic approach to the cytochemical classification of acute leukemia. IN Laboratory Perspectives, Roger Maler, Inc., Arlington (NJ), issue No. 5, 1985, p 2

A Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek az ebben és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban megjelent információknak. A vevő köteles meghatározni, hogy az adott felhasználásra megfelel-e (megfelelnek-e) a termék(ek). További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Kérjük megnézni a számla vagy csomagolóanyag hátsó oldalát az árusítás további kikötései és feltételei véget.

Eljárás száma: 386
Korábbi felülvizsgálat: 2003-09
Átdolgozva: 2005-01

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
Egham, TW20 9BD Egyesült Királyság

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA 314-771-5765
Műszaki szolgálat: 800-325-0250 vagy hívják 314-771-3122
vagy e-mail: clintech@sial.com
Megrendelés: 800-325-3010 vagy hívják: 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
P.O. 1120, 89552 Steinheim, Németország 49-7329-970