

Instructions for Use

Leukocyte Peroxidase
(Myeloperoxidase) Kit

Procedure No. 391

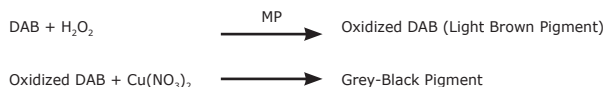


Intended Use

Sigma-Aldrich Peroxidase (Myeloperoxidase) kit is intended for use as a general laboratory histochemical stain for the demonstration of leukocyte peroxidase. The Peroxidase (Myeloperoxidase) kit is for professional "In Vitro Diagnostic Use" only. This manual, qualitative procedure identifies polymorphonucleocytes in blood or bone marrow films of human specimens. Histological visualization and identification of polymorphonucleocytes is a unique technique currently commonly used in medicine.

Diaminobenzidine (DAB), as a benzidine substitute for peroxidase (myeloperoxidase) cytochemistry, has less tinctorial power than benzidine.^{1,2} This made DAB much less attractive to histochemists. However, Hanker and associates improved DAB methodology, making it more suitable for differentiating granulocytes, their precursors and monocytes from cells of lymphoid origin.³⁻⁶ According to their modification, the brown reaction product is first intensified with copper salts followed by application of Gill's modified Papanicolaou stain, resulting in intense grey-black granules at sites of neutrophil and monocyte myeloperoxidase.⁷

The Sigma-Aldrich procedure is similar to that developed by Hanker, involving the following reactions:



When treated with Gill's modified Papanicolaou stain, the reaction product is further intensified and characteristic color imparted to neutrophils, eosinophils and basophils. It should be noted that evidence indicating the carcinogenicity of DAB is equivocal and good laboratory practice should preclude any potential hazard.⁸

Reagents

Diaminobenzidine (Cat. No. 3911-1VL)

Diaminobenzidine tetrahydrochloride, 25 mg/vial (10 vials). Danger. Suspected of causing genetic defects. May cause cancer. Obtain special instructions before use. Use personal protective equipment as required. If exposed or concerned: Get medical advice/attention.

Copper Nitrate (Cat. No. 3912-1VL)

Copper nitrate, 625 mg/vial (2 vials). Danger. May intensify fire, oxidizer. Harmful if swallowed. Causes skin irritation. Causes serious eye damage. Very toxic to aquatic life.

TRIZMA® Buffer Concentrate (Cat. No. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl buffer, 1.0 mol/L. Warning. Causes skin irritation. Causes serious eye irritation.

Glutaraldehyde Solution (Cat. No. 3802-75ML)

Glutaraldehyde, 4%, and borate buffer, 67 mmol/L, pH 7.6. (2 x 75 mL)

Hematoxylin Solution, Gill No. 3 (Cat. No. GHS3-100ML)

Hematoxylin (certified), C.I. 75290, 6 g/L, sodium iodate, 0.6 g/L, aluminum sulfate, 52.8 g/L, and stabilizer.

Gill Modified EA Solution (Cat. No. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certified), C.I. 42053, 0.017% (w/v), Eosin Y (certified), C.I. 45380, 0.4% (w/v), alcohol, 73% (v/v), absolute methyl alcohol, 25% (v/v), glacial acetic acid, 2% (v/v) and phosphotungstic acid, 0.4% (w/v).

Scott's Tap Water Substitute Concentrate (Cat. No. S5134-100ML)

Contains magnesium sulfate • 7H₂O, 200 g/L, sodium bicarbonate, 20 g/L, and preservative

Special Materials Required but Not Provided

- Absolute Ethanol
- Ethanol, 95%
- Hydrogen Peroxide, 1%
- Acetone, ACS Reagent
- Xylene or xylene substitute

Storage and Stability

Store Diaminobenzidine and Glutaraldehyde Solution in refrigerator (2–8°C). Reagent labels bear expiration date. Store other kit reagents at room temperature (18–26°C). Protect Hematoxylin Solution from light. Reagent labels for Copper Nitrate and Gill Modified EA Solution bear expiration date.

Store Copper Nitrate Solution and Scott's Tap Water Substitute Working Solution at room temperature (18–26°C). Store TRIZMA® Working Solution in refrigerator (2–8°C). If turbidity develops, discard Copper Nitrate Solution, TRIZMA® Buffer Concentrate and Working Solution, Scott's Tap Water Substitute Concentrate and Working Solution.

Store Glutaraldehyde-Acetone Fixative tightly stoppered in refrigerator (2–8°C). Stable provided pH is in range 7.2 to 8.0.

Deterioration

Discard Hematoxylin Solution, Gill No. 3, if solution turns brown (air oxidation) or purple (loss of acidity).

Preparation

Copper Nitrate Solution is prepared by dissolving contents of 1 vial Copper Nitrate in 250 mL deionized water.

TRIZMA® Working Solution (pH 7.6 ± 0.3) is prepared by diluting 1 volume of TRIZMA® Buffer Concentrate with 9 volumes deionized water.

Glutaraldehyde-Acetone Fixative Solution is prepared by adding 25 mL reagent grade acetone to 75 mL Glutaraldehyde Solution.

Scott's Tap Water Substitute Working solution is prepared by diluting 1 volume Scott's Tap Water Substitute Concentrate with 9 volumes deionized water.

Filter Hematoxylin Solution, Gill No. 3, before 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

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.

Bone marrow aspirate, peripheral blood or buffy coat preparations may be used. Either heparin or EDTA serves as a satisfactory anticoagulant.³ Unfixed samples may be stored at room temperature (18–26°C) protected from light for several months without loss of activity.⁴

Note

It is recommended that blood films prepared from healthy donors be processed along with patient samples to monitor system performance.

Although myeloperoxidase is generally considered a marker for cells of myelocytic lineage, it is imperative to recognize that monoytoid cells may also display weak peroxidase activity.

Procedure

1. Dissolve contents of 1 Diaminobenzidine vial in 50 mL TRIZMA® Working Solution.
2. Set up a series of staining jars containing the following:
 - Glutaraldehyde-Acetone Fixative Solution
 - Diaminobenzidine Solution prepared in Step 1
 - Copper Nitrate Solution
 - Hematoxylin Solution, Gill No. 3.
 - Scott's Tap Water Substitute Working Solution
 - Gill's Modified EA Solution
 - Two dishes with 95% ethanol
 - Two dishes with absolute ethanol
 - Three dishes with xylene. See NOTE following Step 18
3. Immediately prior to fixing slides, add 0.5 mL 1% hydrogen peroxide to Diamino-benzidine solution prepared in Step 1. Mix well.
4. Fix slides at 4–8°C in Glutaraldehyde-Acetone Fixative Solution for 1 minute.
5. Rinse briefly (30 seconds) in deionized water.
6. Incubate for 45 seconds in Diaminobenzidine/Peroxide solution prepared in Step 3.
7. Rinse briefly (30 seconds) in deionized water.
8. Immerse in Copper Nitrate Solution for 2 minutes with gentle agitation.
9. Rinse briefly (30 seconds) in deionized water.
10. Immerse in Hematoxylin Solution, Gill No. 3 for 8 seconds (4 dips).
11. Rinse in 2 changes of deionized water for 5 seconds with agitation.
12. Immerse for 12 seconds (6 dips) in Scott's Tap Water Substitute Working Solution.
13. Rinse in 2 changes of deionized water for 5 seconds.
14. Immerse in Gill Modified EA Solution for 1 minute.
15. Rinse in 2 changes of 95% ethanol for 3 seconds each.
16. Rinse in 2 changes absolute ethanol for 3 seconds each.
17. Rinse in 3 changes xylene for 3 seconds each.
18. Mount in permanent mounting media and examine microscopically. Color will fade if slides are not mounted.

Note

The procedure may be shortened by eliminating Steps 14–17. Eosinophil peroxidase will appear dark red-brown instead of red-orange. If Gill Modified EA Solution is used, rinsing in alcohol and xylene must be included.

Performance Characteristics

Neutrophils and their precursors show grey-black intracellular granulation. Monocytes stain less intensely. Eosinophils stain red-orange while basophils stain blue. Lymphocytes do not show peroxidase activity.

Blood films prepared from normal donors were stained for myeloperoxidase according to this procedure and by a benzidine method.¹ Neutrophils showed brown-black granulation with this procedure and blue granulation with the benzidine procedure. In both cases, monocytes stained less intensely and lymphocytes did not show myeloperoxidase activity.

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
3911	Diaminobenzidine	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3912	Copper Nitrate	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3913	TRIZMA® Buffer Concentrate	Osmolality	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		pH	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3802	Glutaraldehyde Solution	Sites of Activity	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
GHS3	Hematoxylin Solution, Gill No. 3	Nuclei	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
3915	Gill Modified EA Solution	Cytoplasm	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
S5134	Scott's Tap Water Substitute Concentrate	Osmolality	3 of 3	3 of 3	3 of 3	3 of 3
		pH	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.

391A:



- H225 Highly flammable liquid and vapour.
- H272 May intensify fire, oxidizer.
- H290 May be corrosive to metals.
- H302 + H312 + H332 Harmful if swallowed, in contact with skin or if inhaled.
- H315 Causes skin irritation.
- H317 May cause an allergic skin reaction.
- H318 Causes serious eye damage.
- H334 May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
- H335 May cause respiratory irritation.
- H341 Suspected of causing genetic defects.
- H350 May cause cancer.
- H360 May damage fertility. May damage the unborn child.
- H370 Causes damage to organs.
- H373 May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure if swallowed.
- H410 Very toxic to aquatic life with long lasting effects.
- P201 Obtain special instructions before use.
- P210 Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
- P220 Keep away from clothing and other combustible materials.
- P260 Do not breathe dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
- P273 Avoid release to the environment.
- P280 Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
- P304 + P340 + P312 IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing. Call a POISON CENTER/doctor if you feel unwell.
- P305 + P351 + P338 + P310 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. Immediately call a POISON CENTER/ doctor.
- P308 + P311 IF exposed or concerned: Call a POISON CENTER/doctor.
- P370 + P378 In case of fire: Use dry sand, dry chemical or alcohol-resistant foam to extinguish.

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

Symbol Definitions

Symbols as defined in EN ISO 15223-1:2021

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

References

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Contact Information

To place an order, please visit our web site at [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). For Technical Service, please visit the tech service page on our web site at [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Revision History

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Transferred to new template with current branding. Specified for professional use in intended use and precautions. Revised intended use to align with IVDR guidelines. Updated Material Safety Data Sheet to Safety Data Sheet. Updated contact information. Removed instruction to follow CLSI for specimen collection. Removed EN 980 and changed to EN ISO 15223-1:2021 for symbols. Added adverse event contact information. Added Warnings and Hazards. Added CH-REP information	

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Anweisungen für den Gebrauch

Leukozytenperoxidase (Myeloperoxidase) – Kit

Verfahren Nr. 391

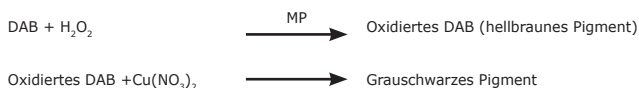


Verwendungszweck

Das Peroxidase (Myeloperoxidase)-Kit von Sigma-Aldrich ist als allgemeines histochemisches Färbemittel für den Laborgebrauch zum Nachweis von Leukozytenperoxidase bestimmt. Das Peroxidase (Myeloperoxidase)-Kit ist nur für die professionelle „In-vitro-Diagnostik“ bestimmt. Bei diesem manuellen, qualitativen Verfahren werden die Polymorphonukleozyten in Blut- oder Knochenmarksausstrichen von menschlichen Proben identifiziert. Die histologische Visualisierung und Identifizierung der Polymorphonukleozyten ist eine einzigartige Technik, die derzeit in der Medizin häufig eingesetzt wird.

Diaminobenzidin (DAB), in der Zytochemie für Peroxidase (Myeloperoxidase) als Ersatz für Benzidin eingesetzt, weist eine geringere Färbewirkung als Benzidin auf.^{1,2} Dadurch war DAB für Histochemiker weit weniger attraktiv. Harker und Mitarbeiter verbesserten jedoch die DAB-Methode, die sich nun besser für die Differenzierung von Granulozyten, ihren Vorstufen und Monozyten von Zellen lymphoiden Ursprungs eignet.³⁻⁶ Nach ihrer Modifikation werden die braunen Reaktionsprodukte zunächst mit Kupfersalzen intensiviert und anschließend mit der modifizierten Papanicolaou-Färbung von Gill gefärbt. Das Ergebnis sind intensive grau-schwarze Granula in den Bereichen, in denen neutrophile und monozytäre Myeloperoxidase vorhanden ist.⁷

Das Verfahren von Sigma-Aldrich ähnelt dem von Harker entwickelten Verfahren, das die folgenden Reaktionen umfasst:



Bei der weiteren Behandlung mit der modifizierten Papanicolaou-Färbung von Gill wird das Reaktionsprodukt noch intensiver und Neutrophile, Eosinophile und Basophile nehmen eine charakteristische Farbe an. Es ist anzumerken, dass es keine eindeutigen Beweise für die Karzinogenität von DAB gibt und dass gute Laborpraktiken sämtliche potenziellen Gefahren ausschließen sollten.⁸

Reagenzien

Diaminobenzidin (Kat.-Nr. 3911-1VL)

Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid, 25 mg/Flasche (10 Fläschchen). Gefahr. Steht im Verdacht, genetische Defekte zu verursachen. Kann Krebs erzeugen. Informieren Sie sich über besondere Hinweise zur Verwendung. Verwenden Sie bei Bedarf persönliche Schutzausrüstung. Bei Exposition oder Möglichkeit einer Exposition: Holen Sie sich ärztlichen Rat/ärztliche Hilfe.

Kupfernitrat (Kat.-Nr. 3912-1VL)

Kupfernitrat, 625 mg/Flasche (2 Fläschchen). Gefahr. Kann Feuer verstärken, Oxidationsmittel. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenschäden. Sehr giftig für Wasserorganismen.

TRIZMA® Pufferkonzentrat (Kat.-Nr. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl-Puffer, 1,0 mol/l. Warnung. Verursacht Hautreizungen. Verursacht schwere Augenreizungen.

Glutaraldehyd-Lösung (Kat.-Nr. 3802-75ML)

Glutaraldehyd, 4 % und Boratpuffer, 67 mmol/l, pH-Wert 7,6 (2 x 75 ml)

Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3 (Kat.-Nr. GH53-100ML)

Hämatoxylin (zertifiziert), C.I. 75290 6 g/l, Natriumiodat, 0,6 g/l, Aluminiumsulfat, 52,8 g/l und Stabilisator.

Nach Gill modifizierte EA-Lösung (Kat.-Nr. 3915-100ML)

Echtgrün FCF (zertifiziert), C.I. 42053, 0,017 % (w/v), Eosin Y (zertifiziert), C.I. 45380, 0,4 % (w/v), Alkohol, 73 % (v/v), reiner Methylalkohol, 25 % (v/v), Eisessig, 2 % (v/v) und Phosphorwolframsäure, 0,4 % (w/v).

Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat (Kat.-Nr. S5134-100ML)

Enthält Magnesiumsulfat. • 7H₂O, 200 g/l, Natriumbicarbonat, 20 g/l und Konservierungsmittel

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

- Reines Ethanol
- Ethanol, 95 %
- Wasserstoffperoxyd, 1 %
- Aceton, ACS-Reagenz
- Xylol oder Xylolersatz

Lagerung und Stabilität

Diaminobenzidin und Glutaraldehyd-Lösung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Die Etiketten der Reagenzien tragen das Verfallsdatum. Die restlichen Reagenzien des Kits bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. Hämatoxylin-Lösung vor Licht schützen. Die Etiketten der Reagenzien für Kupfernitrat und die nach Gill modifizierte EA-Lösung enthalten das Verfallsdatum.

Kupfernitratlösung und Scott's Leitungswasser-Ersatz-Arbeitslösung bei Raumtemperatur (18–26 °C) lagern. TRIZMA® Arbeitslösung im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Beim Auftreten einer Trübung die Kupfernitratlösung, das TRIZMA® Pufferkonzentrat und die Arbeitslösung sowie das Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat und die Arbeitslösung entsorgen.

Das Glutaraldehyd-Aceton-Fixiermittel dicht verschlossen im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahren. Stabil, wenn der pH-Wert im Bereich von 7,2 bis 8,0 liegt.

Zerfall

Die Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, entsorgen, wenn sich die Lösung braun (Luftoxidation) oder violett (Verlust des Säuregehalts) färbt.

Vorbereitung

Zur Herstellung der Kupfernitratlösung den Inhalt einer Ampulle Kupfernitrat in 250 ml entionisiertem Wasser auflösen.

Die TRIZMA® Arbeitslösung (pH-Wert 7,6 ±0,3) wird durch Verdünnen von 1 Volumen TRIZMA® Pufferkonzentrat mit 9 Volumina entionisiertem Wasser hergestellt.

Die Glutaraldehyd-Aceton-Fixierlösung durch Zugabe von 25 ml Reagenz-Aceton zu 75 ml Glutaraldehydlösung zubereiten.

Scott's Leitungswasser-Ersatz Arbeitslösung wird durch Verdünnen von 1 Volumen Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat mit 9 Volumina deionisiertem Wasser hergestellt.

Die Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, vor Gebrauch filtern.

Vorsichtsmaßnahmen

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

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

Verfahren

Probenentnahme

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

Es können Knochenmarkaspirate, peripheres Blut oder Buffy-Coat-Präparate verwendet werden. Als Antikoagulantien eignen sich entweder Heparin oder EDTA.¹ Nicht fixierte Proben können bei Raumtemperatur (18–26 °C) und vor Licht geschützt mehrere Monate lang gelagert werden, ohne ihre Aktivität zu verlieren.⁴

Hinweis

Es wird empfohlen zur Überwachung der Systemleistung Blutaussstriche von gesunden Spendern zusammen mit Patientenproben zu verarbeiten.

Obwohl die Myeloperoxidase im Allgemeinen als Marker für Zellen der myelozytären Abstammung gilt, muss berücksichtigt werden, dass auch monozytoide Zellen eine geringe Peroxidase-Aktivität aufweisen können.

Verfahren

1. Den Inhalt eines Fläschchens Diaminobenzidin in 50 ml TRIZMA® Arbeitslösung auflösen.
2. Eine Reihe von Färbeträgern mit folgenden Materialien vorbereiten:
 - Glutaraldehyd-Aceton-Fixierlösung
 - In Schritt 1 hergestellte Diaminobenzidinlösung
 - Kupfernitratlösung
 - Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3.
 - Scott's Leitungswasser-Ersatz Arbeitslösung
 - Nach Gill modifizierte EA-Lösung
 - Zwei Schalen mit 95%igem Ethanol
 - Zwei Schalen mit reinem Ethanol
 - Drei Schalen mit Xylol. Den HINWEIS nach Schritt 18 beachten
3. Unmittelbar vor dem Fixieren der Objektträger 0,5 ml 1%ige Wasserstoffperoxydlösung zu der in Schritt 1 vorbereiteten Diaminobenzidinlösung hinzufügen. Gut mischen.
4. Die Objektträger bei 4–8 °C für 1 Minute in der Glutaraldehyd-Aceton-Fixierlösung fixieren.
5. Kurz (30 Sekunden) mit entionisiertem Wasser abspülen.
6. 45 Sekunden in der in Schritt 3 vorbereiteten Diaminobenzidin/Peroxid-Lösung inkubieren.
7. Kurz (30 Sekunden) mit entionisiertem Wasser abspülen.
8. Für 2 Minuten in die Kupfernitratlösung eintauchen, dabei vorsichtig umrühren.
9. Kurz (30 Sekunden) mit entionisiertem Wasser abspülen.
10. Für 8 Sekunden in Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3, eintauchen (4 Tauchgänge).
11. 2 Mal unter Bewegung 5 Sekunden lang in entionisiertem Wasser abspülen.
12. Für 12 Sekunden (6 Tauchgänge) in Scott's Leitungswasser-Ersatz Arbeitslösung eintauchen.
13. 2 Mal jeweils 5 Sekunden mit entionisiertem Wasser abspülen.
14. 1 Minute in die nach Gill modifizierte EA-Lösung eintauchen.
15. 2 Mal für jeweils 3 Sekunden mit 95%igem Ethanol spülen.
16. 2 Mal für jeweils 3 Sekunden mit reinem Ethanol spülen.
17. 3 Mal für jeweils 3 Sekunden mit Xylol spülen.
18. In einem permanenten Einbettungsmedium fixieren und mikroskopisch untersuchen. Bei nicht eingebetteten Objektträgern verlässt die Farbe.

Hinweis

Das Verfahren kann durch Weglassen der Schritte 14–17 verkürzt werden. Die eosinophile Peroxidase sieht dunkelrotbraun statt rot-orange aus. Bei Verwendung der nach Gill modifizierten EA-Lösung muss eine Spülung in Alkohol und Xylol erfolgen.

Leistungsmerkmale

Neutrophile und ihre Vorstufen besitzen eine grau-schwarze intrazelluläre Granulierung. Monozyten werden weniger intensiv gefärbt. Eosinophile färben sich rot-orange, während Basophile blau gefärbt sind. Lymphozyten zeigen keine Peroxidase-Aktivität.

Von gesunden Spendern angefertigte Blutabstriche wurden nach diesem Verfahren und mit einer Benzidin-Methode zum Nachweis von Myeloperoxidase angefärbt.¹ Bei diesem Verfahren wiesen Neutrophile eine braun-schwarze Granulation auf; bei dem Benzidin-Verfahren zeigte sich eine blaue Granulation. In beiden Fällen färbten sich die Monozyten weniger intensiv. Die Lymphozyten zeigten keine Myeloperoxidase-Aktivität.

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

Analytische Leistungsmerkmale

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

Kat.-Nr.	Beschreibung des Produkts	Ziel	Intra-Assay-Spezifität	Intra-Assay-Empfindlichkeit	Inter-Assay-Spezifität	Inter-Assay-Empfindlichkeit
3911	Diaminobenzidin	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3912	Kupfernitrat	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3913	TRIZMA® Pufferkonzentrat	Osmolalität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		pH-Wert	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3802	Glutaraldehyd-Lösung	Bereiche der Aktivität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
GHS3	Hämatoxylin-Lösung, Gill Nr. 3	Kerne	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
3915	Nach Gill modifizierte EA-Lösung	Zytoplasma	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
S5134	Scott's Leitungswasser-Ersatzkonzentrat	Osmolalität	3 von 3	3 von 3	3 von 3	3 von 3
		pH-Wert	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.

391A:



- H225 Leicht entzündliche Flüssigkeit und Dampf.
- H272 Kann Feuer verstärken; Oxidationsmittel.
- H290 Kann ätzend auf Metalle wirken.
- H302 + H312 + H332 Gesundheitsschädlich beim Verschlucken, bei Hautkontakt oder Einatmen.
- H315 Verursacht Hautreizungen.
- H317 Kann eine allergische Reaktion der Haut verursachen.
- H318 Verursacht schwere Augenschäden.
- H334 Kann bei Einatmung allergische oder asthmatische Symptome oder Atembeschwerden hervorrufen.
- H335 Kann die Atemwege reizen.
- H341 Steht im Verdacht, genetische Defekte zu verursachen.
- H350 Kann Krebs erzeugen.
- H360 Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das ungeborene Kind schädigen.
- H370 Verursacht Schäden an den Organen.
- H373 Kann bei Verschlucken bei längerer oder wiederholter Exposition die Organe schädigen.
- H410 Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.
- P201 Informieren Sie sich über besondere Hinweise zur Verwendung.
- P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen und anderen Zündquellen fernhalten. Rauchen verboten.
- P220 Von Kleidung und anderen brennbaren Materialien fernhalten.
- P260 Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dämpfe/Spray nicht einatmen.
- P273 Freisetzung in die Umwelt ist zu vermeiden.
- P280 Tragen Sie Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz.
- P304 + P340 + P312 BEIM EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie dafür, dass sie bequem atmen kann. Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE/einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.
- P305 + P351 + P338 + P310 BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Entfernen Sie Kontaktlinsen, falls vorhanden und leicht durchzuführen. Weiter abspülen. Rufen Sie sofort eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P308 + P311 Bei Exposition oder Möglichkeit einer Exposition: Rufen Sie eine GIFTNOTRUFZENTRALE oder einen Arzt an.
- P370 + P378 Im Falle eines Brandes: Verwenden Sie zum Löschen trockenen Sand, Trockenchemikalien oder alkoholbeständigen Schaum.

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

Symbol-Definitionen

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

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

Referenzen

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochn Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Kontaktinformationen

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

Revisionshistorie

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

Die neue Vorlage mit aktuellem Branding wurde angewandt. In Verwendungszweck und Vorsichtsmaßnahmen wurde die Nennung der gewerblichen Verwendung hinzugefügt. Überarbeitung des Verwendungszwecks zur Angleichung an die IVDR-Richtlinien. Materialsicherheitsdatenblatt wurde in Sicherheitsdatenblatt geändert. Kontaktinformationen wurden aktualisiert. Die Anweisung, CLSI für die Probenentnahme zu befolgen, wurde entfernt. EN 980 wurde gestrichen und in EN ISO 15223-1:2021 für Symbole geändert. Kontaktinformationen für unerwünschte Ereignisse wurden hinzugefügt. Warnungen und Gefahren hinzugefügt. CH-REP-Informationen wurden hinzugefügt.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Sigma-Aldrich®

Mode d'emploi

Kit de peroxydase leucocytaire (myéloperoxydase)

Procédure n° 391

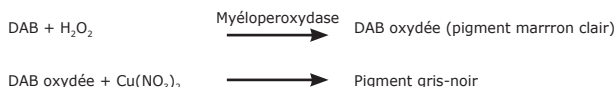


Utilisation prévue

Le kit de peroxydase (myéloperoxydase) de Sigma-Aldrich est destiné à être utilisé comme coloration histochimique générale de laboratoire pour la mise en évidence de la peroxydase leucocytaire. Le kit de peroxydase (myéloperoxydase) est réservé à un usage professionnel et à un « usage en diagnostic *in vitro* ». Cette procédure qualitative manuelle permet d'identifier les polymorphonucléocytes sur les frottis sanguins ou médullaires d'échantillons humains. La visualisation et l'identification histologiques des polymorphonucléocytes est une technique unique actuellement couramment utilisée en médecine.

La diaminobenzidine (DAB), utilisée comme substitut de la benzidine pour la cytochimie de la peroxydase (myéloperoxydase), a un pouvoir colorant moins intense que celui de la benzidine.^{1,2} Elle est donc beaucoup moins intéressante pour les anatomopathologistes. Cependant, Hanker et ses collaborateurs ont amélioré la méthode utilisant la diaminobenzidine (DAB), la rendant ainsi plus adaptée pour différencier les granulocytes, leurs précurseurs et les monocytes des cellules d'origine lymphoïde.³⁻⁶ D'après leur modification, le produit de la réaction marron est d'abord intensifié à l'aide de sels de cuivre, puis de la solution de coloration de Papanicolaou modifiée par Gill est appliquée, ce qui permet d'obtenir des granulations de couleur gris-noir intense aux sites de la myéloperoxydase dans les neutrophiles et les monocytes.⁷

La procédure de Sigma-Aldrich est similaire à celle développée par Hanker, et implique les réactions suivantes :



Lorsqu'il est traité avec la solution de coloration de Papanicolaou modifiée par Gill, le produit de la réaction est encore intensifié et une couleur caractéristique est donnée aux neutrophiles, aux éosinophiles et aux basophiles. Il convient de noter que les données indiquant que la diaminobenzidine est cancérigène sont ambiguës et que le respect des bonnes pratiques de laboratoire doit permettre d'écarter tout risque potentiel.⁸

Réactifs

Diaminobenzidine (réf. 3911-1VL)

Tétrahydrochlorure de diaminobenzidine, 25 mg/flacon (10 flacons). Danger. Susceptible d'induire des anomalies génétiques. Peut provoquer le cancer. Se procurer les instructions avant l'utilisation. Utiliser un équipement de protection individuelle le cas échéant. En cas d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.

Nitrate de cuivre (réf. 3912-1VL)

Nitrate de cuivre, 625 mg/flacon (2 flacons). Danger. Peut aggraver un incendie ; comburant. Nocif en cas d'ingestion. Provoque une irritation cutanée. Provoque des lésions oculaires graves. Très toxique pour les organismes aquatiques.

Tampon concentré TRIZMA® (réf. 3913-50ML)

TRIZMA®-tampon HCl, 1,0 mol/l. Avertissement. Provoque une irritation cutanée. Provoque une irritation oculaire grave.

Solution de glutaraldéhyde (réf. 3802-75ML)

Glutaraldéhyde, 4 %, et tampon borate, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml)

Solution d'hématoxyline de Gill n° 3 (réf. GHS3-100ML)

Hématoxyline (certifiée), C.I. 75290, 6 g/l, iodate de sodium, 0,6 g/l, sulfate d'aluminium, 52,8 g/l et stabilisateur.

Solution EA modifiée de Gill (réf. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certifié), C.I. 42053, 0,017 % (p/v), éosine Y (certifiée), C.I. 45380, 0,4 % (p/v), alcool, 73 % (v/v), alcool méthylique absolu, 25 % (v/v), acide acétique glacial, 2 % (v/v) et acide phosphotungstique, 0,4 % (p/v).

Concentré de substitut à l'eau courante de Scott (réf. S5134-100ML)

Contient du sulfate de magnésium. • 7H₂O, 200 g/l, bicarbonate de sodium, 20 g/l et conservateur.

Matériel spécial requis mais non fourni

- Éthanol absolu
- Éthanol, 95 %
- Peroxyde d'hydrogène, 1 %
- Acétone, de qualité réactif ou de qualité ACS
- Xylène ou substitut du xylène

Conservation et stabilité

Conserver la diaminobenzidine et la solution de glutaraldéhyde au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Les étiquettes des réactifs portent une date limite d'utilisation. Conserver les autres réactifs du kit à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Conserver la solution d'hématoxyline à l'abri de la lumière. Les étiquettes des réactifs pour le nitrate de cuivre et la solution EA modifiée de Gill portent une date limite d'utilisation.

Conserver la solution de nitrate de cuivre et la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott à température ambiante (entre 18 et 26 °C). Conserver la solution de travail de TRIZMA® au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C). Jeter la solution de nitrate de cuivre, le tampon concentré TRIZMA® et sa solution de travail, le concentré de substitut à l'eau courante de Scott et sa solution de travail s'ils deviennent troubles.

Conserver le fixateur à base de glutaraldéhyde-acétone au réfrigérateur (entre 2 et 8 °C) fermé hermétiquement. Il est stable à condition que le pH soit compris entre 7,2 et 8,0.

Détérioration

Jeter la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 si elle devient marron (oxydée par l'air) ou violette (perte d'acidité).

Préparation

La solution de nitrate de cuivre est préparée en dissolvant le contenu d'un (1) flacon de nitrate de cuivre dans 250 ml d'eau déionisée.

La solution de travail de TRIZMA® (pH 7,6 ± 0,3) est préparée en diluant 1 volume de tampon concentré TRIZMA® avec 9 volumes d'eau déionisée.

La solution de fixation à base de glutaraldéhyde-acétone est préparée en ajoutant 25 ml d'acétone de qualité réactif à 75 ml de solution de glutaraldéhyde.

La solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott est préparée en diluant 1 volume de concentré de substitut à l'eau courante de Scott avec 9 volumes d'eau déionisée.

Filtrer la solution d'hématoxyline de Gill n° 3 avant de l'utiliser.

Précautions

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

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

Procédure

Prélèvement des échantillons

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

Il est possible d'utiliser des préparations de ponction de moelle osseuse, de sang périphérique ou de couche leucocytaire. L'héparine ou l'EDTA constitue un bon anticoagulant.³ Les échantillons non fixés peuvent être conservés à température ambiante (entre 18 et 26 °C) à l'abri de la lumière pendant plusieurs mois sans aucune perte de l'activité.⁴

Remarque

Il est recommandé de traiter des frottis sanguins préparés à partir de donneurs sains en même temps que les échantillons de patients. Ils serviront ainsi de contrôles des performances du système.

Bien que la myéloperoxydase soit généralement considérée comme un marqueur des cellules de la lignée myélocytaire, il est impératif de reconnaître que les cellules de la lignée monocytaire peuvent également présenter une faible activité peroxydase.

Procédure

1. Dissoudre le contenu d'un (1) flacon de diaminobenzidine dans 50 ml de solution de travail de TRIZMA®.
2. Préparer une série de cuves à coloration avec les solutions suivantes :
 - Solution de fixation à base de glutaraldéhyde-acétone
 - Solution de diaminobenzidine préparée à l'étape 1
 - Solution de nitrate de cuivre
 - Solution d'hématoxyline de Gill n° 3
 - Solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott
 - Solution EA modifiée de Gill
 - Deux cuves avec de l'éthanol à 95 %
 - Deux cuves avec de l'éthanol absolu
 - Trois cuves avec du xylène. Voir la REMARQUE après l'étape 18.
3. Juste avant de fixer les lames, ajouter 0,5 ml de peroxyde d'hydrogène à 1 % à la solution de diaminobenzidine préparée à l'étape 1. Bien mélanger.
4. Fixer les lames entre 4 et 8 °C dans la solution de fixation à base de glutaraldéhyde-acétone pendant 1 minute.
5. Rincer brièvement (30 secondes) à l'eau déionisée.
6. Laisser incuber pendant 45 secondes dans la solution de diaminobenzidine/péroxyde préparée à l'étape 3.
7. Rincer brièvement (30 secondes) à l'eau déionisée.
8. Immerger dans la solution de nitrate de cuivre pendant 2 minutes en agitant délicatement.
9. Rincer brièvement (30 secondes) à l'eau déionisée.
10. Plonger 4 fois (pendant 8 secondes) dans la solution d'hématoxyline de Gill n° 3.
11. Rincer dans 2 bains d'eau déionisée pendant 5 secondes en agitant.
12. Plonger 6 fois (pendant 12 secondes) dans la solution de travail du substitut à l'eau courante de Scott.
13. Rincer dans 2 bains d'eau déionisée pendant 5 secondes.
14. Immerger dans la solution EA modifiée de Gill pendant 1 minute.
15. Rincer pendant 3 secondes dans chacun des 2 bains d'éthanol à 95 %.
16. Rincer pendant 3 secondes dans chacun des 2 bains d'éthanol absolu.
17. Rincer pendant 3 secondes dans chacun des 3 bains de xylène.
18. Monter les lames avec un milieu de montage permanent et les examiner au microscope. La couleur s'estompera si les lames ne sont pas montées.

Remarque

La procédure peut être raccourcie en éliminant les étapes 14 à 17. Dans les éosinophiles, la peroxydase apparaîtra rouge foncé-marron au lieu de rouge-orange. Si la solution EA modifiée de Gill est utilisée, il faut prévoir un rinçage à l'alcool et au xylène.

Caractéristiques de performance

Les neutrophiles et leurs précurseurs présentent des granulations intracellulaires de couleur gris-noir. Les monocytes se colorent moins intensément. Les éosinophiles se colorent en rouge-orange tandis que les basophiles se colorent en bleu. Les lymphocytes ne présentent pas d'activité peroxydase.

Des frottis sanguins préparés à partir de donneurs en bonne santé ont été colorés afin de mettre en évidence la myéloperoxydase en utilisant la procédure décrite ici, ainsi que par une méthode utilisant la benzidine.¹ Des granulations de couleur marron-noir ont été observées dans les neutrophiles avec la procédure décrite ici ; les granulations étaient de couleur bleue avec la procédure utilisant la benzidine. Dans les deux cas, les monocytes se sont colorés moins intensément et les lymphocytes n'ont montré aucune activité myéloperoxydase.

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
3911	Diaminobenzidine	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3912	Nitrate de cuivre	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3913	Tampon concentré TRIZMA®	Osmolalité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		pH	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3802	Solution de glutaraldéhyde	Sites d'activité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
GHS3	Solution d'hématoxyline de Gill n° 3	Noyaux	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
3915	Solution EA modifiée de Gill	Cytoplasme	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
S5134	Concentré de substitut à l'eau courante de Scott	Osmolalité	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3	3 sur 3
		pH	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.

391A :



- H225 Liquide et vapeurs très inflammables.
- H272 Peut aggraver un incendie ; comburant.
- H290 Peut être corrosif pour les métaux.
- H302 + H312 + H332 Nocif en cas d'ingestion, par contact cutané ou par inhalation.
- H315 Provoque une irritation cutanée.
- H317 Peut provoquer une allergie cutanée.
- H318 Provoque des lésions oculaires graves.
- H334 Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.
- H335 Peut irriter les voies respiratoires.
- H341 Susceptible d'induire des anomalies génétiques.
- H350 Peut provoquer le cancer.
- H360 Peut nuire à la fertilité. Peut nuire au fœtus.
- H370 Risque avéré d'effets graves pour les organes.
- H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée par ingestion.
- H410 Très toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
- P201 Se procurer les instructions avant l'utilisation.
- P210 Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
- P220 Tenir à l'écart des vêtements et autres matières combustibles.
- P260 Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
- P273 Éviter le rejet dans l'environnement.
- P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
- P304 + P340 + P312 EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
- P305 + P351 + P338 + P310 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
- P308 + P311 EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.

P370 + P378 En cas d'incendie : utiliser du sable sec, un produit chimique sec ou de la mousse résistante à l'alcool pour éteindre.

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

Définition des symboles

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

	Fabricant		Référence catalogue
	Consulter le mode d'emploi		Numéro du lot
	Représentant agréé dans la Communauté européenne/ l'Union européenne		Déclaration de conformité de l'Union européenne (définie dans le règlement 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i>)
	Date limite d'utilisation		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température		Attention
	Date de fabrication		Importateur
	Indique le représentant agréé en Suisse		

Références

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Coordonnées

Pour passer commande, consulter notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Pour le service technique, consulter la page du service technique sur notre site Web à l'adresse [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Historique des révisions

Rév. 3.0	2014
Rév. 4.0	2016
Rév. 5.0	2023
Transfert vers un nouveau modèle avec l'image de marque actuelle. Précision de l'usage professionnel dans l'utilisation prévue et les précautions. Révision de l'utilisation prévue afin de l'aligner sur les recommandations de la réglementation relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Remplacement du texte « Material Safety Data Sheet » par « Safety Data Sheet » dans la version anglaise. Mise à jour des coordonnées. Suppression de l'instruction indiquant de suivre les normes et recommandations du CLSI pour le prélèvement des échantillons. Remplacement de la norme EN 980 par la norme EN ISO 15223-1:2021 pour les symboles. Ajout de coordonnées en cas d'événements indésirables. Ajout de la section relative aux avertissements et risques. Added CH-REP information	

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

Istruzioni per l'uso

Kit perossidasi leucocitaria (Mieloperossidasi)

Procedura n. 391

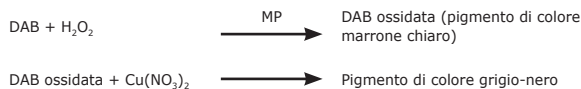


Uso previsto

Il kit per perossidasi (Mieloperossidasi) di Sigma-Aldrich è destinato all'uso come colorante istochimico generale di laboratorio per il rilevamento della perossidasi leucocitaria. Il kit per perossidasi (mieloperoxidasi) è destinato soltanto alla "diagnostica in vitro" professionale. Questa procedura qualitativa manuale identifica i leucociti polimorfonucleati negli strisci ematici o midollari ottenuti da campioni umani. La visualizzazione istologica e l'identificazione dei leucociti polimorfonucleati è una tecnica unica al momento comunemente utilizzata in medicina.

La diaminobenzidina (DAB), come sostituto della benzidina per la citochimica della perossidasi (mieloperoxidasi), ha un potere colorante inferiore rispetto a quello della benzidina.^{1,2} Ciò ha reso la DAB molto meno interessante per gli specialisti in istochimica. Tuttavia, Hanker et al. hanno migliorato la tecnica che utilizza la DAB, rendendola più idonea a differenziare i granulociti e i loro precursori, come anche i monociti dalle cellule di origine linfoidi.³⁻⁶ Secondo la loro modifica, il colore marrone del prodotto di reazione viene dapprima intensificato con l'aggiunta di sali di rame, poi si applica la colorazione di Papanicolaou modificata con Gill, ottenendo in tal modo granuli di un intenso colore grigio-nero nelle sedi della mieloperossidasi di neutrofili e monociti.⁷

La procedura di Sigma-Aldrich è simile a quella sviluppata da Hanker e include le seguenti reazioni:



Quando viene trattato con la colorazione di Papanicolaou modificata con Gill, il prodotto di reazione diventa ancora più marcato e neutrofili, eosinofili e basofili assumono un colore caratteristico. Da tenere presente che l'evidenza secondo cui la DAB sarebbe cancerogena è equivoca e le buone pratiche di laboratorio dovrebbero prevenire qualunque potenziale pericolo.⁸

Reagenti

Diaminobenzidina (N. di cat. 3911-1VL)

Diaminobenzidina tetracloridrato, 25 mg/fiaconcino (10 fiaconcini). Pericolo. Sospettato di provocare alterazioni genetiche. Può provocare il cancro. Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso. Utilizzare i dispositivi di protezione individuale richiesti. In caso di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico.

Nitrato di rame (N. di cat. 3912-1VL)

Nitrato di rame, 625 mg/fiaconcino (2 fiaconcini). Pericolo. Può aggravare un incendio; comburente. Nocivo se ingerito. Provoca irritazione cutanea. Provoca gravi lesioni oculari. Molto tossico per gli organismi acquatici.

TRIZMA® Buffer Concentrate (N. di cat. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl buffer, 1,0 mol/l. Avvertenza. Provoca irritazione cutanea. Provoca grave irritazione oculare.

Soluzione di glutaraldeide (N. di cat. 3802-75 ML)

Glutaraldeide, 4%, tampone borato, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml)

Soluzione di ematosilina di Gill, N. 3 (N. di cat. GHS3-100ML)

Ematosilina certificata, C.I. 75290, 6 g/l, iodato di sodio, 0,6 g/l, solfato di alluminio, 52,8 g/l e stabilizzante.

Soluzione di Gill modificata EA (N. di cat. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certificato), C.I. 42053, 0,017% (p/v), eosina Y (certificata), C.I. 45380, 0,4% (p/v), alcol, 73% (v/v), alcol metilico assoluto, 25% (v/v), acido acetico glaciale, 2% (v/v) e acido fosforico, 0,4% (p/v).

Concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto (N. di cat. S5134-100ML)

Contiene solfato di magnesio • 7H₂O, 200 g/l, bicarbonato di sodio, 20 g/l e conservante.

Materiali specifici necessari, ma non forniti in dotazione

- Etanolo assoluto
- Etanolo, 95%
- Perossido di idrogeno, 1%
- Acetone, reagente grado ACS
- Xilene o sostituto dello xilene

Conservazione e stabilità

Conservare la diaminobenzidina e la soluzione di glutaraldeide in frigorifero (2-8 °C). Le etichette dei reagenti riportano la data di scadenza. Conservare gli altri reagenti del kit a temperatura ambiente (18-26 °C). Tenere la soluzione di ematosilina al riparo dalla luce. Le etichette dei reagenti per nitrato di rame e soluzione di Gill modificata EA riportano la data di scadenza.

Conservare la soluzione di nitrato di rame e la soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto a temperatura ambiente (18-26 °C). Conservare la soluzione di lavoro TRIZMA® in frigorifero (2-8 °C). Se appaiono torbidi, la soluzione di nitrato di rame, il tampone concentrato TRIZMA®, il concentrato di soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto e la soluzione di lavoro.

Conservare il fissativo glutaraldeide-acetone ben chiuso in frigorifero (2-8 °C). Stabile a condizione che il pH sia compreso tra 7,2 e 8,0.

Deterioramento

Scartare soluzione di ematosilina di Gill, N. 3 se la soluzione diventa marrone (ossidazione causata dall'aria) o porpora (perdita di acidità).

Preparazione

Per preparare la soluzione di nitrato di rame, sciogliere il contenuto di 1 fiaconcino di nitrato di rame in 250 ml di acqua deionizzata.

Per preparare la soluzione di lavoro TRIZMA® (pH 7,6±0,3), diluire 1 volume di tampone concentrato TRIZMA® con 9 volumi di acqua deionizzata.

Per preparare la soluzione fissativa glutaraldeide-acetone, aggiungere 25 ml di acetone di grado ACS a 75 ml di soluzione di glutaraldeide.

Per preparare la soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto, diluire 1 volume di concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto con 9 volumi di acqua deionizzata.

Filtrare la soluzione di ematosilina di Gill, N. 3 prima dell'uso.

Precauzioni

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

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

Procedura

Raccolta dei campioni

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

È possibile utilizzare preparati da aspirato midollare, sangue periferico o buffy coat. Eparina o EDTA sono buoni anticoagulanti.³ I campioni non fissati possono essere conservati a temperatura ambiente (18-26 °C) al riparo dalla luce per diversi mesi senza perdita di attività.⁴

Nota

Per monitorare le prestazioni del sistema, si raccomanda di trattare gli strisci ematici provenienti da donatori sani insieme ai campioni dei pazienti.

Sebbene la mieloperossidasi sia considerata in genere un marcatore per le cellule della linea mielocitica, è imperativo riconoscere che le cellule monocitoidi possono mostrare anche una debole attività perossidasi.

Procedura

1. Sciogliere il contenuto di 1 fiaconcino di diaminobenzidina in 50 ml di soluzione di lavoro TRIZMA®.
2. Preparare una serie di vaschette per colorazione contenenti quanto segue:
 - Soluzione fissativa glutaraldeide-acetone
 - Soluzione di diaminobenzidina preparata al punto 1
 - Soluzione di nitrato di rame
 - Soluzione di ematosilina di Gill, N. 3.
 - Soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto
 - Soluzione di Gill modificata EA
 - Due piastre con etanolo al 95%
 - Due piastre con etanolo assoluto
 - Tre piastre con xilene. Fare riferimento alla NOTA dopo il punto 18
3. Immediatamente prima di fissare i vetrini, aggiungere 0,5 ml di perossido di idrogeno all'1% alla soluzione di diaminobenzidina preparata nel punto 1. Mescolare bene.
4. Fissare i vetrini a 4-8 °C in soluzione fissativa glutaraldeide-acetone per 1 minuto.
5. Sciacquare rapidamente (30 secondi) in acqua deionizzata.
6. Incubare per 45 secondi nella soluzione di diaminobenzidina/perossido preparata al punto 3.
7. Sciacquare rapidamente (30 secondi) in acqua deionizzata.
8. Immergere nella soluzione di nitrato di rame per 2 minuti agitando delicatamente.
9. Sciacquare rapidamente (30 secondi) in acqua deionizzata.
10. Immergere in soluzione di ematosilina di Gill, N. 3 per 8 secondi (4 immersioni).
11. Sciacquare in acqua deionizzata per 5 secondi con agitazione. Ripetere 2 volte cambiando l'acqua deionizzata.
12. Immergere per 12 secondi (6 immersioni) in soluzione di lavoro di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto.
13. Sciacquare in acqua deionizzata per 5 secondi. Ripetere 2 volte cambiando l'acqua deionizzata.
14. Immergere in soluzione di Gill modificata EA per 1 minuto.
15. Sciacquare in etanolo al 95% per 3 secondi. Ripetere 2 volte cambiando l'etanolo.
16. Sciacquare in etanolo assoluto per 3 secondi. Ripetere 2 volte cambiando l'etanolo.
17. Sciacquare in xilene per 3 secondi. Ripetere 3 volte.
18. Montare in mezzi di montaggio permanenti ed esaminare al microscopio. Il colore sbiadisce se i vetrini non sono montati.

Nota

La procedura può essere abbreviata eliminando i punti 14-17. La perossidasi eosinofila apparirà di colore rosso scuro-marrone anziché rosso-arancio. Se si usa la soluzione di Gill modificata EA, è necessario sciacquare in alcol e xilene.

Caratteristiche prestazionali

I neutrofili e i loro precursori evidenziano una granulazione intracellulare di colore grigio-nero. La colorazione dei monociti è meno intensa. Gli eosinofili assumono un colore rosso-arancio, i basofili un colore blu. I linfociti non rivelano attività di perossidasi.

Gli strisci ematici provenienti da donatori sani sono stati sottoposti a colorazione con mieloperossidasi secondo questa procedura e con un metodo a base di benzidina.¹ I neutrofili hanno evidenziato una granulazione di colore nero-marrone con questa procedura e granulazione blu con il metodo a base di benzidina. In entrambi i casi, la colorazione dei monociti è risultata meno intensa e i linfociti non hanno mostrato attività mieloperossidasi.

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
3911	Diaminobenzidina	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3912	Nitrato di rame	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3913	TRIZMA® Buffer Concentrate	Osmolalità	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3802	Soluzione di glutaraldeide	Sedi di attività	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
GHS3	Soluzione di ematossilina di Gill, N. 3	Nuclei	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
3915	Soluzione di Gill modificata EA	Citoplasma	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
S5134	Concentrato di soluzione di Scott sostitutiva dell'acqua di rubinetto	Osmolalità	3 su 3	3 su 3	3 su 3	3 su 3
		pH	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.

391A:



- H225 Liquido e vapore facilmente infiammabili.
- H272 Può aggravare un incendio; comburente.
- H290 Può essere corrosivo per i metalli.
- H302 + H312 + H332 Tossico se ingerito, a contatto con la pelle o se inalato.
- H315 Provoca irritazione cutanea.
- H317 Può provocare una reazione cutanea allergica.
- H318 Provoca gravi lesioni oculari.
- H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
- H335 Può irritare le vie respiratorie.
- H341 Sospettato di provocare alterazioni genetiche.
- H350 Può provocare il cancro.
- H360 Può nuocere alla fertilità o al feto.
- H370 Provoca danni agli organi.
- H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta, se ingerito.
- H410 Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
- P201 Procurarsi le istruzioni prima dell'uso.
- P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme o altre fonti di innesco. Non fumare.
- P220 Tenere lontano da indumenti e altri materiali combustibili.
- P260 Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
- P273 Non disperdere nell'ambiente.
- P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.
- P304 + P340 + P312 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In presenza di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P305 + P351 + P338 + P310 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
- P308 + P311 In caso di esposizione o di possibile esposizione: contattare un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.
- P370 + P378 In caso di incendio: utilizzare sabbia secca, prodotto chimico secco oppure schiuma resistente all'alcool per l'estinzione.

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

Definizioni dei simboli

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

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

Bibliografia

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966.
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966.
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978.
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979.
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980.
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991.
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974.
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242.

Recapiti

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

Cronologia delle revisioni

Rev. 3.0	2014
Rev. 4.0	2016
Rev. 5.0	2023
Trasferito a un nuovo modello con il marchio attuale. Specificato "per uso professionale" nelle sezioni "Uso previsto" e "Precauzioni". Modificata la sezione "Uso previsto" per allinearla alle linee guida dell'IVDR. Modificato "scheda dati di sicurezza dei materiali" in "scheda dati di sicurezza". Aggiornati i recapiti. Eliminate le istruzioni per conformarsi allo standard CLSI per la raccolta dei campioni. Sostituita l'indicazione della norma EN 980 con quella della norma EN ISO 15223-1:2021 per i simboli. Aggiunti recapiti da contattare in caso di eventi avversi. Aggiunta la sezione "Avvertenze e pericoli". Aggiunta informazione per Mandatario in Svizzera.	

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Instrucciones de uso

Kit de peroxidasa leucocitaria (Mieloperoxidasa)

Procedimiento n.º 391

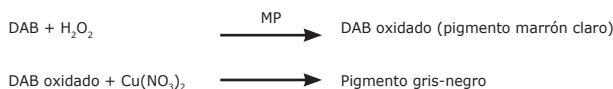


Uso previsto

El kit de peroxidasa de Sigma-Aldrich (Mieloperoxidasa) está pensado para uso como tinción histoquímica general de laboratorio para la detección de la peroxidasa leucocitaria. El kit de peroxidasa leucocitaria (Mieloperoxidasa) es exclusivamente para "uso diagnóstico in vitro" profesional. Este procedimiento manual y cualitativo identifica polimorfonucleocitos en láminas de sangre o de médula ósea de muestras humanas. La visualización e identificación histológica de los polimorfonucleocitos representa una técnica única en la actualidad y es comúnmente utilizada en medicina.

La diaminobencidina (DAB), como sustituto de la bencidina para la citotécnica de la peroxidasa (mieloperoxidasa), tiene menos poder de tinción que la bencidina.^{1,2} Esto ha hecho que la DAB fuera mucho menos atractiva para los histoquímicos. Sin embargo, Hanker y sus colaboradores mejoraron la metodología DAB, haciéndola más adecuada para diferenciar los granulocitos, sus precursores y los monocitos de las células de origen linfocítico.³⁻⁶ Según su modificación, el producto de la reacción marrón se intensifica primero con sales de cobre, seguido de la aplicación de la tinción de Papanicolaou modificada de Gill, lo que da lugar a gránulos intensos de color gris-negro en los lugares de la mieloperoxidasa de neutrófilos y monocitos.⁷

El procedimiento de Sigma-Aldrich es similar al desarrollado por Hanker, con las siguientes reacciones:



Cuando se trata con la tinción de Papanicolaou modificada de Gill, el producto de la reacción se intensifica aún más y da un color característico a los neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Cabe señalar que las pruebas que indican la carcinogenicidad del DAB son equívocas y las buenas prácticas de laboratorio deben excluir cualquier peligro potencial.⁸

Reactivos

Diaminobencidina (N.º de cat. 3911-1VL)

Tetrahidrocloruro de diaminobencidina, 25 mg/vial (10 viales). Peligro. Susceptible de provocar defectos genéticos. Puede provocar cáncer. Obtener instrucciones especiales antes de su uso. Utilizar el equipo de protección personal necesario. En caso de exposición demostrada o supuesta: Consultar a un médico.

Nitrato de cobre (N.º de cat. 3912-1VL)

Nitrato de cobre, 625 mg/vial (2 viales). Peligro. Puede agravar un incendio; comburente. Nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea. Provoca lesiones oculares graves. Muy tóxico para los organismos acuáticos.

Concentrado de solución amortiguadora TRIZMA® (N.º de cat. 3913-50ML)

Solución amortiguadora TRIZMA®-HCl, 1,0 mol/l. Advertencia. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave.

Solución de glutaraldehído (N.º de cat. 3802-75ML)

Glutaraldehído, al 4 %, y solución amortiguadora de borato, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml).

Solución de hematoxilina, Gill N.º 3 (N.º de cat. GHS3-100ML)

Hematoxilina (certificada), C.I. 75290, 6 g/l, yodato sódico, 0,6 g/l, sulfato de aluminio, 52,8 g/l y estabilizante.

Solución EA modificada de Gill (N.º de cat. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certificado), C.I. 42053, 0,017 % (p/v), Eosina Y (certificada), C.I. 45380, 0,4 % (p/v), alcohol, 73 % (v/v), alcohol metílico absoluto, 25 % (v/v), ácido acético glacial, 2 % (v/v) y ácido fosfotúngstico, 0,4 % (p/v).

Concentrado sustituto del agua corriente de Scott (N.º de cat. S5134-100ML)

Contiene sulfato de magnesio • 7H₂O, 200 g/l, bicarbonato de sodio, 20 g/l, y conservante.

Material especial necesario pero no suministrado

- Etanol absoluto
- Etanol, al 95 %
- Peróxido de hidrógeno, al 1 %.
- Acetona, reactivo ACS
- Xileno o sustituto del xileno

Almacenamiento y estabilidad

Almacenar la solución de diaminobencidina y glutaraldehído en el frigorífico (2-8 °C). Las etiquetas de los reactivos indican la fecha de caducidad. Almacenar los demás reactivos a temperatura ambiente (18-26 °C). Proteger la solución de hematoxilina de la luz. Las etiquetas de los reactivos de nitrato de cobre y solución EA modificada de Gill llevan la fecha de caducidad.

Almacenar la solución de nitrato de cobre y la solución de trabajo del sustituto del agua del grifo de Scott a temperatura ambiente (18-26 °C). Almacenar la solución de trabajo TRIZMA® en el frigorífico (2-8 °C). Si se produce turbidez, deseche la solución de nitrato de cobre, el concentrado de solución amortiguadora y la solución de trabajo TRIZMA®, y el concentrado sustitutivo del agua del grifo y la solución de trabajo de Scott.

Almacenar el fijador de glutaraldehído-acetona bien tapado en el refrigerador (2-8 °C). Estable siempre que el pH esté en el intervalo de 7,2 a 8,0.

Deterioro

Deseche la solución de hematoxilina, Gill N.º 3, si la solución se vuelve marrón (oxidación por aire) o púrpura (pérdida de acidez).

Preparación

La solución de nitrato de cobre se prepara disolviendo el contenido de 1 vial de nitrato de cobre en 250 ml de agua desionizada.

La solución de trabajo TRIZMA® (pH 7,6 ±0,3) se prepara diluyendo 1 volumen del concentrado de solución amortiguadora TRIZMA® con 9 volúmenes de agua desionizada.

La solución fijadora de glutaraldehído-acetona se prepara añadiendo 25 ml de acetona de grado reactivo a 75 ml de solución de glutaraldehído.

La solución de trabajo del sustituto del agua corriente de Scott se prepara diluyendo 1 volumen del concentrado sustitutivo del agua corriente de Scott con 9 volúmenes de agua desionizada.

Filtrar la solución de hematoxilina de Gill N.º 3, antes de 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 de Sigma-Aldrich puede utilizar los DMDIV para manipular muestras humanas que puedan ser infecciosas, utilizar microscopios y otros equipos de laboratorio y tener percepción de los colores y agudeza visual para distinguir los colores y otros objetos bajo el microscopio.

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

Procedimiento

Recogida de la muestra

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

Se puede utilizar el aspirado de médula ósea, la sangre periférica o las preparaciones de capa leucoplaquetaria. La heparina o el EDTA sirven como anticoagulante satisfactorio.³ Las muestras no fijadas pueden almacenarse a temperatura ambiente (18-26 °C) protegidas de la luz durante varios meses sin que pierdan su actividad.⁴

Nota

Se recomienda procesar las láminas de sangre procedentes de donantes sanos junto con las muestras de pacientes para comprobar el rendimiento del sistema.

Aunque la mieloperoxidasa se considera generalmente un marcador de células de linaje mielocítico, es imprescindible reconocer que las células monocitoides también pueden mostrar una débil actividad de peroxidasa.

Procedimiento

1. Disolver el contenido de 1 vial de diaminobencidina en 50 ml de solución de trabajo TRIZMA®.
2. Prepare una serie de frascos de tinción que contengan lo siguiente:
 - Solución fijadora de glutaraldehído-acetona
 - Solución de diaminobencidina preparada en el Paso 1
 - Solución de nitrato de cobre
 - Solución de hematoxilina Gill N.º 3
 - Solución de trabajo del sustitutivo del agua del grifo de Scott
 - Solución EA modificada de Gill
 - Dos placas con etanol al 95 %
 - Dos placas con etanol absoluto
 - Tres placas con xileno. Véase la NOTA que sigue al paso 18
3. Inmediatamente antes de fijar los portaobjetos, añadir 0,5 ml de peróxido de hidrógeno al 1 % a la solución de diaminobencidina preparada en el paso 1. Mezclar bien.
4. Fijar los portaobjetos a 4-8 °C en una solución fijadora de glutaraldehído y acetona durante 1 minuto.
5. Aclarar brevemente (30 segundos) en agua desionizada.
6. Incubar durante 45 segundos en la solución de diaminobencidina/peróxido preparada en el paso 3.
7. Aclarar brevemente (30 segundos) en agua desionizada.
8. Sumergir en la solución de nitrato de cobre durante 2 minutos con una agitación suave.
9. Aclarar brevemente (30 segundos) en agua desionizada.
10. Sumergir en solución de hematoxilina, Gill N.º 3, durante 8 segundos (4 inmersiones).
11. Aclarar en 2 cambios de agua desionizada durante 5 segundos con agitación.
12. Sumergir durante 12 segundos (6 inmersiones) en solución de trabajo del sustitutivo del agua del grifo de Scott.
13. Aclarar en 2 cambios de agua desionizada durante 5 segundos.
14. Sumergir en la solución EA modificada de Gill durante 1 minuto.
15. Aclarar en 2 cambios de etanol al 95 % durante 3 segundos cada uno.
16. Aclarar en 2 cambios de etanol absoluto durante 3 segundos cada uno.
17. Aclarar en 3 cambios de xileno durante 3 segundos cada uno.
18. Montar en un medio de montaje permanente y examinar al microscopio. El color se desvanecerá si los portaobjetos no están montados.

Nota

El procedimiento puede acortarse eliminando los pasos 14-17. La peroxidasa de los eosinófilos aparecerá de color rojo-marrón oscuro en lugar de rojo-anaranjado. Si se utiliza la solución EA modificada de Gill, debe incluirse el enjuague en alcohol y xileno.

Características de funcionamiento

Los neutrófilos y sus precursores muestran una granulación intracelular gris-negra. Los monocitos se tiñen con menor intensidad. Los eosinófilos se tiñen de rojo-naranja mientras que los basófilos se tiñen de azul. Los linfocitos no muestran actividad de peroxidasa.

Las láminas de sangre preparadas a partir de donantes normales se tiñeron para detectar la mieloperoxidasa según este procedimiento y con el método de la bencidina.¹ Los neutrófilos mostraron una granulación marrón-negra con este procedimiento y una granulación azul con el procedimiento de la bencidina. En ambos casos, los monocitos se tiñeron con menor intensidad y los linfocitos no mostraron actividad mieloperoxidasa.

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
3911	Diaminobencidina	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3912	Nitrato de cobre	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3913	Concentrado de solución amortiguadora TRIZMA®	Osmolalidad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		pH	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3802	Solución de glutaraldehído	Lugares de actividad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
GHS3	Solución de hematoxilina Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3915	Solución EA modificada de Gill	Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
S5134	Concentrado sustitutivo del agua corriente de Scott	Osmolalidad	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		pH	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.

391A:



- H225 Líquido y vapores muy inflamables.
- H272 Puede agravar un incendio; comburente.
- H290 Puede ser corrosiva para los metales.
- H302 + H312 + H332 Nocivo en caso de ingestión, en contacto con la piel o si se inhala.
- H315 Provoca irritación cutánea.
- H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- H318 Provoca lesiones oculares graves.
- H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias si se inhala.
- H335 Puede irritar las vías respiratorias.
- H341 Susceptible de provocar defectos genéticos.
- H350 Puede provocar cáncer.
- H360 Puede perjudicar la fertilidad. Puede dañar al feto.
- H370 Provoca daños en los órganos.
- H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.
- H410 Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos duraderos.
- P201 Obtener instrucciones especiales antes de su uso.
- P210 Mantener alejado del calor, superficies calientes, chispas, llamas al descubierto y otras fuentes de ignición. No fumar.
- P220 Mantener alejado de la ropa y otros materiales combustibles.
- P260 No respirar polvos/humos/gases/nieblas/vapores/aerosoles.
- P273 No dispersar en el medio ambiente.
- P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara.
- P304 + P340 + P312 EN CASO DE INHALACIÓN: Transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si la persona no se encuentra bien.
- P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir enjuagando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- EP308 + P311 EN CASO DE exposición demostrada o supuesta: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.
- P370 + P378 En caso de incendio: Utilizar arena seca, producto químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción.

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

Definiciones de los símbolos

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

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

Referencias

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966.
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward y JM Polak, Editores, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Información de contacto

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

Historial de revisiones

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

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

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Brugsanvisning

Leukocytoperoxidase (myeloperoxidase)-sæt

Procedure nr. 391



Tilsigtet brug

Sigma-Aldrichs peroxidase (myeloperoxidase)-sæt er beregnet til brug som en histokemisk farvning til almindelig laboratoriebrug med henblik på påvisning af leukocytoperoxidase. Peroxidase (myeloperoxidase)-sættet er udelukkende beregnet til professionel "in vitro-diagnostisk brug". Denne manuelle kvalitative procedure identificerer polymorfonukleocyter i blod- eller knoglemarvsfilm baseret på præparater fra mennesker. Histologisk visualisering og identifikation af polymorfonukleocyter er en unik teknik, som aktuelt finder bred anvendelse på det medicinske område.

Diaminobenzidin (DAB), som en benzidinerstatning for peroxidase (myeloperoxidase)-cytokemi, har mindre farvestyrke end benzidin.^{1,2} Dette gjorde DAB meget mindre attraktivt for histokemikere. Hanker og partnere forbedrede dog DAB-metoden, hvilket gjorde den mere egnet til at differentiere granulocytter, deres prækursorer og monocytter fra celler af lymfoid oprindelse.³⁻⁶ I henhold til deres modifikation intensiveres det brune reaktionsprodukt først med kobbersalte efterfulgt af påføring af Gills modificerede Papanicolaou-farve, hvilket resulterer i intense gråsorte granula på steder med neutrofil- og monocyt-myeloperoxidase.⁷

Sigma-Aldrich-proceduren ligner den, der er udviklet af Hanker, og involverer følgende reaktioner:



Når det behandles med Gills modificerede Papanicolaou-farve, forstærkes reaktionsproduktet yderligere, og der opstår en karakteristisk farvning af neutrofiler, eosinofiler og basofiler. Det skal bemærkes, at evidens, der peger på DAB's carcinogenicitet, er tvetydig, og god laboratoriepraksis bør udelukke enhver potentiel fare.⁸

Reagenser

Diaminobenzidin (kat.nr. 3911-1VL)

Diaminobenzidintetrahydrochlorid, 25 mg/hætteglas (10 hætteglas). Fare. Mistænkt for at forårsage genetiske defekter. Kan fremkalde kræft. Indhent særlige anvisninger før brug. Brug personlige værnemidler efter behov. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp.

Kobbernitrat (kat.nr. 3912-1VL)

Kobbernitrat, 625 mg/hætteglas (2 hætteglas). Fare. Kan forstærke brand, brandnærende. Farlig ved indtagelse. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenskade. Meget giftig for vandlevende organismer.

TRIZMA® bufferkoncentrat (kat.nr. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl-buffer, 1,0 mol/l. Advarsel. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation.

Glutaraldehydopløsning (kat.nr. 3802-75ML)

Glutaraldehyd, 4 %, og boratbuffer, 67 mmol/l, pH 7,6 (2 x 75 ml).

Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3 (kat.nr. GHS3-100ML)

Hæmatoxylin (certificeret), CI 75290, 6 g/l, natriumiodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabilisator.

Gills modificeret EA-opløsning (kat.nr. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certificeret), CI 42053, 0,017 % (vægt/vol.), eosin Y (certificeret), CI 45380, 0,4 % (vægt/vol.), alkohol, 73 % (vol./vol.), absolut methylalkohol, 25 % (vol./vol.), iseddikesyre, 2 % (vol./vol.) og phosphorwolframsyre, 0,4 % (vægt/vol.).

Scotts postevandserstatningskoncentrat (kat.nr. S5134-100ML)

Indeholder magnesiumsulfat • 7H₂O, 200 g/l, natriumbicarbonat, 20 g/l, og konserveringsmiddel.

Særlige materialer, som er påkrævede, men ikke medfølger

- Absolut ethanol
- Ethanol, 95 %
- Hydrogenperoxid, 1 %
- Acetone, ACS-reagens
- Xylen eller xylenerstatning

Opbevaring og stabilitet

Opbevar diaminobenzidin og glutaraldehydopløsning i køleskab (2-8 °C). Reagensmærkaterne er forsynet med udløbsdato. Opbevar andre reagenser i sættet ved stuetemperatur (18-26 °C). Beskyt hæmatoxylinopløsning mod lys. Reagensmærkater for kobbernitrat og Gills modificeret EA-opløsning er forsynet med udløbsdato.

Opbevar kobbernitratopløsning og arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning ved stuetemperatur (18-26 °C). Opbevar TRIZMA® arbejdsopløsning i køleskab (2-8 °C). Kobbernitratopløsning, TRIZMA® bufferkoncentrat og arbejdsopløsning og Scotts postevandserstatningskoncentrat og arbejdsopløsning skal kasseres, hvis der udvikles turbiditet.

Opbevar glutaraldehyd-acetonefiksativ tæt tillukket i køleskab (2-8 °C). Stabil forudsat at pH er i området 7,2 til 8,0.

Forringelse

Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, skal kasseres, hvis opløsningen bliver brun (oxideret på grund af luft) eller lilla (tab af surhed).

Forberedelse

Kobbernitratopløsning fremstilles ved at opløse indholdet af 1 hætteglas kobbernitrat i 250 ml demineraliseret vand.

TRIZMA® arbejdsopløsning (pH 7,6 ±0,3) fremstilles ved at fortynde 1 del TRIZMA® bufferkoncentrat med 9 dele demineraliseret vand.

Glutaraldehyd-acetone-fiksativopløsning fremstilles ved at tilsætte 25 ml acetone af reagenskvalitet til 75 ml glutaraldehydopløsning.

Arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning fremstilles ved at fortynde 1 del Scotts postevandserstatningskoncentrat med 9 dele demineraliseret vand.

Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3, skal filtreres inden brug.

Forsigtighedsregler

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

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

Procedure

Prøveindsamling

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

Knoglemarvsaspirat, perifert blod eller buffy coat-præparater kan anvendes. Enten heparin eller EDTA fungerer som tilfredsstillende antikoagulan.³ Ufikserede prøver kan opbevares ved stuetemperatur (18-26 °C) beskyttet mod lys i flere måneder uden tab af aktivitet.⁴

Bemærk

Det anbefales, at blodfilm, som er fremstillet ud fra raske donorer, behandles sammen med patientprøver for at overvåge systemets ydeevne.

Selvom myeloperoxidase generelt betragtes som en markør for celler af myelocytisk afstamning, er det bydende nødvendigt at erkende, at monocytoid celler også kan udvise svag peroxidaseaktivitet.

Procedure

- Opløs indholdet af 1 hætteglas med diaminobenzidin i 50 ml TRIZMA® arbejdsopløsning.
- Opsæt en række farvningskåle, der indeholder følgende:
 - Glutaraldehyd-acetone-fiksativopløsning
 - Diaminobenzidinopløsning fremstillet i trin 1
 - Kobbernitratopløsning
 - Hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3
 - Arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning
 - Gills modificeret EA-opløsning
 - To skåle med 95 % ethanol
 - To skåle med absolut ethanol
 - Tre skåle med xylen. Se BEMÆRK efter trin 18
- Umiddelbart inden fiksering af objektglassene tilsættes 0,5 ml 1 % hydrogenperoxid til diaminobenzidinopløsningen, som blev fremstillet i trin 1. Bland grundigt.
- Fikser objektglassene ved 4-8 °C i glutaraldehyd-acetone-fiksativopløsning i 1 minut.
- Skyl kort (30 sekunder) i demineraliseret vand.
- Inkuber i 45 sekunder i diaminobenzidin/peroxidopløsningen, som blev fremstillet i trin 3.
- Skyl kort (30 sekunder) i demineraliseret vand.
- Nedsenk i kobbernitratopløsning i 2 minutter under forsigtig omrøring.
- Skyl kort (30 sekunder) i demineraliseret vand.
- Nedsenk i hæmatoxylinopløsning, Gill nr. 3 i 8 sekunder (4 dyp).
- Skyl i 2 hold demineraliseret vand i 5 sekunder under omrøring.
- Nedsenk i arbejdsopløsning af Scotts postevandserstatning i 12 sekunder (6 dyp).
- Skyl i 2 hold demineraliseret vand i 5 sekunder.
- Nedsenk i Gills modificeret EA-opløsning i 1 minut.
- Skyl i 2 hold 95 % ethanol i 3 sekunder hver.
- Skyl i 2 hold absolut ethanol i 3 sekunder hver.
- Skyl i 3 hold xylen i 3 sekunder hver.
- Monter i permanent monteringsmedium, og undersøg mikroskopisk. Farven falmer, hvis objektglassene ikke monteres.

Bemærk

Proceduren kan forkortes ved at fjerne trin 14-17. Eosinofil-peroxidase vil fremstå mørkt rødbrun i stedet for rød-orange. Hvis Gills modificeret EA-opløsning anvendes, skal skylning i alkohol og xylen inkluderes.

Præstationskarakteristika

Neutrofiler og deres prækursorer udviser gråsort intracellulær granulering. Monocytter farves mindre intenst. Eosinofiler farves rød-orange, mens basofiler farves blå. Lymfocytter udviser ikke peroxidaseaktivitet.

Blodfilm fremstillet fra normale donorer blev farvet for myeloperoxidase i henhold til denne procedure og ved brug af en benzidinmetode.¹ Neutrofiler udviste brunsort granulering med denne procedure og blå granulering med benzidinproceduren. I begge tilfælde farvedes monocytter mindre intenst, og lymfocytter udviste ikke myeloperoxidaseaktivitet.

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

Analytiske præstationskarakteristika

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

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Specificitet inden for analyse	Sensitivitet inden for analyse	Specificitet mellem analyser	Sensitivitet mellem analyser
3911	Diaminobenzidin	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3912	Kobbernitrat	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3913	TRIZMA® bufferkoncentrat	Osmolalitet	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3802	Glutaraldehyd-opløsning	Aktivitetssteder	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
GHS3	Hæmatoxylin-opløsning, Gill nr. 3	Kerner	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
3915	Gills modificeret EA-opløsning	Cytoplasma	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
S5134	Scotts postevandserstatningskoncentrat	Osmolalitet	3 af 3	3 af 3	3 af 3	3 af 3
		pH	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.

391A:



- H225 Meget brandfarlig væske og damp.
- H272 Kan forstærke brand, brandnærende.
- H290 Kan ætse metaller.
- H302 + H312 + H332 Farlig ved indtagelse, hudkontakt eller ved indånding.
- H315 Forårsager hudirritation.
- H317 Kan forårsage allergisk hudreaktion.
- H318 Forårsager alvorlig øjenskade.
- H334 Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.
- H335 Kan forårsage irritation af luftvejene.
- H341 Mistænkt for at forårsage genetiske defekter.
- H350 Kan fremkalde kræft.
- H360 Kan skade forplantningsevnen. Kan skade det ufødte barn.
- H370 Forårsager organskader.
- H373 Kan forårsage organskader ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.
- H410 Meget giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer.
- P201 Indhent særlige anvisninger før brug.
- P210 Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
- P220 Holdes væk fra beklædningsgenstande og andre brændbare materialer.
- P260 Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
- P273 Undgå udledning til miljøet.
- P280 Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
- P304 + P340 + P312 VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Kontakt GIFTLINJEN/en læge i tilfælde af ubehag.
- P305 + P351 + P338 + P310 VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge.
- P308 + P311 VED eksponering eller mistanke om eksponering: Ring til en GIFTINFORMATION/læge.
- P370 + P378 I tilfælde af brand: Anvend tørt sand, tørt kemisk eller alkoholbestandigt skum til brandslukning.

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

Symboldefinitioner

Symboler som defineret i EN ISO 15223-1:2021

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

Referencer

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. PJ Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Kontaktoplysninger

Besøg vores websted på SigmaAldrich.com for at afgive en bestilling. Gå til siden for teknisk service på vores websted på SigmaAldrich.com/techservice for at få oplysninger om teknisk service.

Revisionshistorik

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

Overført til ny skabelon med nuværende branding. Specificeret til professionel brug under tilsigtet brug og forsigtighedsregler. Revideret tilsigtet brug for at tilpasse til IVDR-retningslinjer. Opdateret materialesikkerhedsdatablad til sikkerhedsdatablad. Opdateret kontaktoplysninger. Fjernet instruks om at følge CLSI vedrørende prøveindsamling. Fjernet EN 980 og ændret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. Tilføjet kontaktoplysninger i tilfælde af uønskede hændelser. Tilføjet advarsler og farer. Tilføjet information om repræsentant i Schweiz.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Bruksanvisning

Leukocytperoxidas-sats (myeloperoxidas)

Förfarande nr. 391



Avsedd användning

Sigma-Aldrich peroxidas-sats (myeloperoxidas) är avsedd för användning som en allmän laboratoriehistokemisk färgning för demonstration av leukocytperoxidas. Peroxidas-satsen (Myeloperoxidas) är endast avsedd för professionell "in vitro-diagnostisk användning". Det här manuella och kvalitativa förfarandet identifierar polymorfonukleocyter i blod- eller benmärgsfilmer från människor. Histologisk visualisering och identifiering av polymorfonukleocyter är en unik teknik som för närvarande ofta används inom medicinska områden.

Diaminbensidin (DAB), som ett bensidinsubstitut för peroxidas (myeloperoxidas) cytochemi, har mindre färgningskraft än bensidin.^{1,2} Detta gjorde DAB mycket mindre attraktivt för histokemister. Dock förbättrade Hanker och kollegor DAB-metoden och gjorde den mer lämplig för att särskilja granulocyter, deras förstadier och monocyter från celler av lymfatisk ursprung.³⁻⁶ Enligt deras modifiering intensifieras den bruna reaktionsprodukten först med kopparsalter, följt av en applikation av Gills modifierade Papanicolaou-färgning, vilket leder till intensiva gråsvarta granula på ställen med neutrofiler och monocytmyeloperoxidas.⁷

Sigma-Aldrich-förfarandet liknar den som utvecklades av Hanker, och involverar följande reaktioner.



När den behandlas med Gills modifierade Papanicolaou-färgning, intensifieras reaktionsprodukten ytterligare och neutrofiler, eosinofiler och basofiler får karakteristisk färg. Det bör understrykas att evidens som indikerar att karcinogenitet hos DAB är tveksam, och god laboratoriesed bör utesluta eventuella fara.⁸

Reagenser

Diaminbensidin (kat.-nr. 3911-1VL)

Diaminbensidin-tetrahydroklorid, 25 mg/flaska (10 flaskor). Fara. Misstänks orsaka genetiska defekter. Kan orsaka cancer. Skaffa speciella instruktioner före användning. Använd personlig skyddsutrustning efter behov. Om exponerad eller orolig: Uppsök läkare.

Kopparnitrat (kat.-nr. 3912-1VL)

Kopparnitrat, 625 mg/flaska (2 flaskor). Fara. Kan intensifiera eld; oxidationsmedel. Skadligt vid förtäring. Orsakar hudirritation. Orsakar allvarliga ögonskador. Mycket giftigt för vattenlevande organismer.

TRIZMAL® buffertkoncentrat (kat.-nr. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl-buffert, 1,0 mol/l. Fara. Orsakar hudirritation. Orsakar svår ögonirritation.

Glutaraldehydlösning (kat.-nr. 3802-75ML)

Glutaraldehyd, 4 %, och boratbuffert, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml)

Hematoxylinlösning, Gill nr. 3 (kat.-nr. GHS3-100ML)

Hematoxylin (certifierad), C.I. 75290, 6 g/l, natriumjodat 0,6 g/l, aluminiumsulfat 52,8 g/l och stabiliseringsmedel.

Gill modifierad EA-lösning (kat.-nr. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certifierad), C.I. 42053, 0,017 % (vikt/volym), eosin Y (certifierad), C.I. 45380, 0,4 % (vikt/volym), alkohol, 73 % (volym/volym), absolut metylalkohol, 25 % (volym/volym), isättika, 2 % (volym/volym) och fosfovolframsyra, 0,4 % (vikt/volym).

Scotts kranvattensättning, koncentrat (kat.-nr. S5134-100 ML)

Innehåller magnesiumsulfat • 7H₂O, 200 g/l, natriumbikarbonat, 20 g/l, och konserveringsmedel

Särskilt material som krävs men inte tillhandahålls

- Absolut etanol
- Etanol, 95 %
- Väteperoxid, 1 %
- Aceton, ACS-reagens
- Xylen eller xylenersättning

Förvaring och hållbarhet

Förvara diaminbensidin och glutaraldehydlösning i kylskåp (2–8 °C). Utgångsdatum finns på reagensmärkningen. Förvara andra satsreagenser i rumstemperatur (18–26 °C). Skydda hematoxylinlösning från ljus. Utgångsdatum står på reagensmärkningen för kopparnitrat och Gill modifierade EA-lösning.

Förvara kopparnitratlösning och verksam lösning av Scotts kranvattensättning i rumstemperatur (18–26 °C). Förvara TRIZMA® verksam lösning i kylskåp (2–8°C). Om grumlighet uppstår ska du kassera kopparnitratlösning, TRIZMA® buffertkoncentrat och verksam lösning, Scotts kranvattensättningskoncentrat och verksam lösning.

Förvara glutaraldehyd-aceton-fixeringsmedel tätt tillslutet i kylskåp (2–8 °C). Stabil om pH är mellan 7,2 och 8,0.

Försämring

Kassera hematoxylinlösning, Gill nr. 3, om lösningen blir brun (oxiderad av luft) eller lila (minskad surhet).

Beredning

Kopparnitratlösning bereds genom att lösa upp innehållet i 1 flaska kopparnitrat i 250 ml avjoniserat vatten.

TRIZMAL® verksam lösning (pH 7,6 ± 0,3) framställs genom att blanda 1 volym TRIZMAL® buffertkoncentrat med 9 volymer avjoniserat vatten.

Förbered glutaraldehydacetontfixeringslösning genom att tillsätta 25 ml aceton av reagenskvalitet till 75 ml glutaraldehydlösning.

Verksam lösning av Scotts kranvattensättning bereds genom att späda 1 del Scotts kranvattensättningskoncentrat med 9 delar avjoniserat vatten.

Filtrera hematoxylinlösning, Gill nr. 3 före varje användningstillfälle.

Försiktighetsåtgärder

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

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

Förfarande

Provtagning

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

Preparat av benmärgsaspirat, perifert blod eller buffy-coat kan användas. Antingen heparin eller EDTA fungerar som tillfredsställande antikoagulantia.³ Icke-fixerade prover kan förvaras i rumstemperatur (18–26 °C) skyddade från ljus i flera månader utan aktivitetsförlust.⁴

Obs!

Det rekommenderas att blodfilm som har framtagits med prov från friska donatorer behandlas tillsammans med patientproverna för att kontrollera systemprestandan.

Trots att myeloperoxidas generellt anses vara en markör för myeloida celler är det viktigt att känna till att monocytoida celler också kan visa svag peroxidasaktivitet.

Förfarande

- Lös upp innehållet i 1 diaminbensidinflaska i 50 ml TRIZMA® arbetslösning.
- Förbered en serie färgningsburkar med följande innehåll:
 - Glutaraldehydacetontfixeringslösning
 - Diaminbensidinlösning beredd i steg 1
 - Kopparnitratlösning
 - Hematoxylinlösning, Gill nr. 3.
 - Verksam lösning av Scotts kranvattensättning
 - Gills modifierade EA-lösning
 - Två skålar med 95 % etanol
 - Två skålar med absolut etanol
 - Tre skålar med xylen. Se OBSERVANDA efter steg 18.
- Omedelbart före fixering av objektglas ska du lägga till 0,5 ml 1 % väteperoxid i diaminbensidinlösningen som förberetts i steg 1. Blanda väl.
- Fixera objektglas vid 4–8 °C i glutaraldehydacetontfixeringslösning i 1 minut.
- Skölj kort (30 sekunder) i avjoniserat vatten.
- Inkubera i 45 sekunder i diaminbensidin/peroxid-lösningen beredd i steg 3.
- Skölj kort (30 sekunder) i avjoniserat vatten.
- Sänk ned i kopparnitratlösning i 2 minuter med försiktig omrörning.
- Skölj kort (30 sekunder) i avjoniserat vatten.
- Sänk ned i hematoxylinlösning, Gill nr. 3 i 8 sekunder (4 dopp).
- Skölj i 2 byten med avjoniserat vatten i 5 sekunder med omrörning.
- Sänk ned i 12 sekunder (6 dopp) i arbetslösning av Scotts kranvattensättning.
- Skölj i 2 byten med avjoniserat vatten i 5 sekunder.
- Sänk ned i Gills modifierade EA-lösning i 1 minut.
- Skölj i 2 byten med 95 % etanol i 3 sekunder var.
- Skölj i 2 byten med absolut etanol i 3 sekunder var.
- Skölj i 3 byten xylen i 3 sekunder var.
- Montera i permanent monteringsmedium och undersök mikroskopiskt. Färgen kommer blekna om objektglaset inte monteras.

Obs!

Förfarandet kan kortas genom att utesluta steg 14–17. Eosinofilerperoxidas kommer vara mörkt röd-bruna istället för röd-orange. Om Gills modifierade EA-lösning används måste sköljning i alkohol och xylen ingå.

Prestandaegenskaper

Neutrofiler och deras förstadier visar gråsvart intracellulär granulering. Monocyter färgas inte lika intensivt. Eosinofiler färgas röd-orange medan basofiler färgas blå. Lymfocyter visar inte peroxidasaktivitet.

Blodfilmer framställda från normala donatorer färgades för myeloperoxidas enligt detta förfarande och med en bensidinmetod.¹ Neutrofiler visade brunsvart granulering med detta förfarande och blå granulering med bensidin-förfarandet. I båda fallen färgades monocyter mindre intensivt och lymfocyter visade inte myeloperoxidasaktivitet.

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 repeaterbarhet.

Kat.-nr.	Produktbeskrivning	Mål	Specificitet inom analys	Sensitivitet inom analys	Specificitet mellan analyser	Sensitivitet mellan analyser
3911	Diaminobensidin	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3912	Kopparnitrat	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3913	TRIZMAL® buffertkoncentrat	Osmola-litet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		pH	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3802	Glutaraldehydlösning	Aktivitets-ställen	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3	Hematoxylinlösning, Gill nr. 3	Kärnor	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3915	Gills modifierade EA-lösning	Cytoplas-ma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
S5134	Scotts kranvattensättning, koncentrat	Osmola-litet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		pH	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.

391A:



- H225 Mycket brandfarlig vätska och ånga.
- H272 Kan intensifiera eld; oxidationsmedel.
- H290 Kan vara frätande på metaller.
- H302 + H312 + H332 Skadligt vid förtäring, hudkontakt eller inandning.
- H315 Orsakar hudirritation.
- H317 Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
- H318 Orsakar allvarliga ögonskador.
- H334 Kan orsaka allergiska eller astmatiska symtom eller andningssvårigheter vid inandning.
- H335 Kan orsaka irritation i luftvägarna.
- H341 Misstänks orsaka genetiska defekter.
- H350 Kan orsaka cancer.
- H360 Kan skada fertiliteten. Kan skada det ofödda barnet.
- H370 Orsakar organskador.
- H373 Kan orsaka skador på organ genom långvarig eller upprepad exponering vid förtäring.
- H410 Mycket giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter.
- P201 Inhämta särskilda instruktioner före användning.
- P210 Håll borta från värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
- P220 Håll borta från kläder och andra brännbara material.
- P260 Andas inte in damm/rök/gas/dimma/ångor/spray.
- P273 Undvik utsläpp i miljön.
- P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/skyddsglasögon/ansiktsskydd.
- P304 + P340 + P312 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att personen andas utan problem. Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare om du mår dåligt.
- P305 + P351 + P338 + P310 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ut eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Ring omedelbart till en GIFTINFORMATIONSCENTRAL/läkare.
- P308 + P311 Om exponerad eller orolig: Ring en GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
- P370 + P378 Vid brand: Använd torr sand, torr kemikalie eller alkoholbeständigt skum för att släcka.

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

Symbolförklaring

Symboler enligt definition i EN ISO 15223-1:2021

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

Referenser

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochn Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histocytochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. PJ Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Redaktörer, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, sid. 149–242

Kontakttuppgifter

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

Revisionshistorik

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

Överfört till ny mall med nuvarande varumärke. Specificerat "För yrkesmässigt bruk" under "Avsedd användning" och under "Försiktighetsåtgärder". Reviderat "Avsedd användning" så att det motsvarar riktlinjerna för IVDR. Uppdaterat "Materialsäkerhetsdatablad" till "Säkerhetsdatablad". Uppdaterat kontakttuppgifterna. 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 kontakttuppgifter för negativa händelser. Lagt till varningar och faror. Lagt till information om representant i Schweiz.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Sigma-Aldrich®

Instruções de utilização

Kit de Peroxidase leucocitária (Mieloperoxidase)

Procedimento N.º 391



Utilização prevista

O Kit de Peroxidase (Mieloperoxidase) da Sigma-Aldrich destina-se a utilização como uma coloração histoquímica de laboratório geral para a demonstração da peroxidase leucocitária. O Kit de Peroxidase (Mieloperoxidase) destina-se somente a "Utilização de diagnóstico In Vitro" por profissionais. Este procedimento qualitativo e manual identifica os polimorfonucleócitos em películas de sangue ou medula óssea de amostras humanas. A visualização histológica e identificação de polimorfonucleócitos é uma técnica única atualmente utilizada em medicina.

A diaminobenzidina (DAB), como substituto de benzidina para citoquímica de peroxidase (mieloperoxidase), tem menos poder de coloração do que a benzidina.^{1,2} Isto tornou a DAB muito menos atraente para os histoquímicos. Contudo, Hanker e associados melhoraram a metodologia da DAB, tornando-a mais adequada para diferenciar os granulócitos, os seus precursores e monócitos das células de origem linfóide.³⁻⁶ De acordo com a sua modificação, o produto de reação castanha é primeiro intensificado com sais de cobre, seguido da aplicação da coloração de Papanicolaou modificada Gill, resultando em grânulos cinzentos-pretos intensos nos locais de mieloperoxidase de neutrófilos e monócitos.⁷

O procedimento da Sigma-Aldrich é semelhante ao desenvolvido pela Hanker, envolvendo as seguintes reações:



Quando tratado com a coloração de Papanicolaou modificada Gill, o produto de reação é ainda mais intensificado e a cor característica é conferida aos neutrófilos, eosinófilos e basófilos. De salientar que as evidências que indicam a carcinogenicidade da DAB são ambíguas e as boas práticas de laboratório devem excluir qualquer potencial perigo.⁸

Reagentes

Diaminobenzidina (N.º de cat. 3911-1VL)

Tetracloridrato de diaminobenzidina, 25 mg/frasco (10 ampolas). Perigo. Suspeito de provocar defeitos genéticos. Pode causar cancro. Pedir instruções específicas antes da utilização. Utilizar equipamento de proteção individual, conforme necessário. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: Consultar um médico.

Nitrato de cobre (N.º de cat. 3912-1VL)

Nitrato de cobre, 625 mg/frasco (2 frascos). Perigo. Pode agravar incêndios; comburente. Nocivo por ingestão. Provoca irritação cutânea. Provoca lesões oculares graves. Muito tóxico para a vida aquática.

Concentrado de Tampão TRIZMA® (N.º de cat. 3913-50ML)

Tampão TRIZMA®-HCl, 1,0 mol/l. Aviso. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave.

Solução de Glutaraldeído (N.º de cat. 3802-75ML)

Glutaraldeído, 4%, e tampão de borato, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml)

Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3 (N.º de cat. GHS3-100ML)

Hematoxilina (certificada), C.I. 75290, 6 g/l, iodato de sódio, 0,6 g/l, sulfato de alumínio, 52,8 g/l e estabilizador.

Solução EA modificada de Gill (N.º de cat. 3915-100ML)

Verde rápido FCF (certificado), C.I. 42053, 0,017% (p/v), Eosina Y (certificada), C.I. 45380, 0,4% (p/v), álcool, 73% (v/v), álcool metílico absoluto, 25% (v/v), ácido acético glacial, 2% (v/v) e ácido fosfotúngstico, 0,4% (p/v).

Concentrado de Substituto de água da torneira Scott (N.º de cat. S5134-100ML)

Contém sulfato de magnésio • 7H₂O, 200 g/l, bicarbonato de sódio, 20 g/l e conservante

Materiais especiais necessários mas não fornecidos

- Etanol absoluto
- Etanol, 95%
- Peróxido de hidrogénio, 1%
- Acetona, Reagente ACS
- Xileno ou substituto do xileno

Conservação e estabilidade

Conservar a Diaminobenzidina e a Solução de Glutaraldeído no frigorífico (2-8 °C). As etiquetas dos reagentes têm data de validade. Conserve os outros reagentes do kit à temperatura ambiente (18-26 °C). Proteger a Solução de Hematoxilina da luz. As etiquetas de reagentes do Nitrato de Cobre e da Solução EA modificada Gill têm data de validade.

Conservar Solução de Nitrato de cobre e Solução de trabalho Substituto de água da torneira Scott à temperatura ambiente (18-26 °C). Conservar a Solução de trabalho TRIZMA® no frigorífico (2-8 °C). Se surgir turbidez, eliminar a Solução de Nitrato de cobre, o Concentrado de tampão e a Solução de trabalho TRIZMA®, Concentrado de Substituto de água da torneira Scott e a Solução de trabalho.

Conservar o Fixador de glutaraldeído-acetona firmemente rolhado no frigorífico (2-8 °C). Estável desde que o pH esteja no intervalo de 7,2 a 8,0.

Deterioração

Eliminar a Solução de Hematoxilina, Gill N.º 3, se a solução ficar castanha (oxidação do ar) ou púrpura (perda de acidez).

Preparação

A Solução de Nitrato de cobre é preparada dissolvendo o conteúdo de 1 frasco de Nitrato de cobre em 250 ml de água desionizada.

A Solução de trabalho TRIZMA® (pH 7,6 ± 0,3) é preparada diluindo 1 volume de Concentrado de tampão TRIZMA® com 9 volumes de água desionizada.

A Solução fixadora de Glutaraldeído-Acetona é preparada adicionando 25 ml de acetona de grau de reagente a 75 ml de Solução de Glutaraldeído.

A Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott é preparada diluindo 1 volume de Concentrado de substituto de água da torneira Scott em 9 volumes de água desionizada.

Filtrar a Solução de Hematoxilina, Gill N.º 3, antes da utilização.

Precauções

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

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

Procedimento

Colheita de amostras

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

Podem ser utilizados aspirados de medula óssea, sangue periférico ou preparações de camada leuco-plaquetária. A heparina ou EDTA atua como um anticoagulante satisfatório.³ As amostras não fixadas podem ser conservadas à temperatura ambiente (18-26 °C), protegidas da luz durante vários meses, sem perda de atividade.⁴

Nota

Recomenda-se que sejam processadas películas de sangue preparadas a partir de dadores saudáveis juntamente com amostras de doentes para monitorizar o desempenho do sistema.

Embora, geralmente, a mieloperoxidase seja considerada um marcador de células de linhagem mielocítica, é imperativo reconhecer que as células monocitóides também podem exibir uma atividade fraca da peroxidase.

Procedimento

1. Dissolver o conteúdo de 1 frasco de Diaminobenzidina em 50 ml de Solução de trabalho TRIZMA®.
2. Preparar uma série de jaras de coloração contendo o seguinte:
 - Solução de Fixador de Glutaraldeído-Acetona
 - Solução de Diaminobenzidina preparada no Passo 1
 - Solução de Nitrato de cobre
 - Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3
 - Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott
 - Solução EA modificada Gill
 - Duas tinas com etanol a 95%
 - Duas tinas com etanol absoluto
 - Três tinas com xileno. Consultar a NOTA a seguir ao Passo 18
3. Imediatamente antes da fixação das lâminas, adicionar 0,5 ml de peróxido de hidrogénio a 1% à Solução de Diaminobenzidina preparada no Passo 1. Misturar bem.
4. Fixar as lâminas a 4-8 °C em Solução de Fixador de glutaraldeído-acetona durante 1 minuto.
5. Enxaguar brevemente (30 segundos) em água desionizada.
6. Incubar durante 45 segundos em solução de Diaminobenzidina/Peróxido preparada no Passo 3.
7. Enxaguar brevemente (30 segundos) em água desionizada.
8. Submergir em Solução de Nitrato de cobre durante 2 minutos com uma agitação suave.
9. Enxaguar brevemente (30 segundos) em água desionizada.
10. Submergir em Solução de Hematoxilina, Gill N.º 3, durante 8 segundos (4 mergulhos).
11. Enxaguar em 2 mudanças de água desionizada durante 5 segundos com agitação.
12. Submergir durante 12 segundos (6 mergulhos) em Solução de trabalho do Substituto de água da torneira Scott.
13. Enxaguar em 2 mudanças de água desionizada durante 5 segundos.
14. Submergir em Solução EA modificada Gill durante 1 minuto.
15. Enxaguar em 2 mudanças de etanol a 95% durante 3 segundos cada.
16. Enxaguar em 2 mudanças de etanol absoluto durante 3 segundos cada.
17. Enxaguar em 3 mudanças de xileno durante 3 segundos cada.
18. Montar em meios de montagem permanentes e examinar microscopicamente. A cor irá desbotar se as lâminas não forem montadas.

Nota

O procedimento pode ser encurtado eliminando os Passos 14-17. A peroxidase eosinofílica surge a vermelho escuro-castanho em vez de vermelho-laranja. Se utilizar a Solução EA modificada Gill, deve incluir enxaguamento em álcool e xileno.

Características do desempenho

Os neutrófilos e os seus precursores exibem uma granulação intracelular cinzenta-negra. Os monócitos coram menos intensamente. Os eosinófilos coram a vermelho-laranja ao passo que os basófilos coram a azul. Os linfócitos não exibem atividade de peroxidase.

As películas de sangue preparadas a partir de dadores normais foram coradas para mieloperoxidase de acordo com este procedimento e através de um método de benzidina.¹ Os neutrófilos exibiram uma granulação castanha-preta com este procedimento e uma granulação azul com o procedimento da benzidina. Em ambos os casos, os monócitos coraram menos intensamente e os linfócitos não exibiram atividade de mieloperoxidase.

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

Características do desempenho analítico

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

N.º de cat.	Descrição do produto	Alvo	Especificidade intraensaio	Sensibilidade intraensaio	Especificidade interensaio	Sensibilidade interensaio
3911	Diaminobenzidina	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3912	Nitrato de cobre	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3913	Concentrado de Tampão TRIZMAL™	Osmolalidade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		pH	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3802	Solução de Glutaraldeído	Locais de atividade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
GHS3	Solução de Hematoxilina, Gill n.º 3	Núcleos	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
3915	Solução EA modificada Gill	Citoplasma	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
S5134	Concentrado de Substituto de água da torneira Scott	Osmolalidade	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3
		pH	3 de 3	3 de 3	3 de 3	3 de 3

Avisos e Perigos

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

391A:



- H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.
- H272 Pode agravar incêndios; comburente.
- H290 Pode ser corrosivo para os metais.
- H302 + H312 + H332 Nocivo por ingestão, em contacto com a pele ou por inalação.
- H315 Provoca irritação cutânea.
- H317 Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
- H318 Provoca lesões oculares graves.
- H334 Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.
- H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias.
- H341 Suspeito de provocar anomalias genéticas
- H350 Pode provocar cancro.
- H360 Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro.
- H370 Afeta os órgãos.
- H373 Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida em caso de ingestão.
- H410 Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
- P201 Pedir instruções específicas antes da utilização.
- P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
- P220 Manter afastado da roupa e de outras matérias combustíveis.
- P260 Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.
- P273 Evitar a libertação para o ambiente.
- P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
- P304 + P340 + P312 EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P305 + P351 + P338 + P310 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Lavar cautelosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P308 + P311 EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.
- P370 + P378 Em caso de incêndio: Para extinguir, utilizar areia seca, produto químico seco ou espuma resistente ao álcool.

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

Definições dos símbolos

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

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

Referências

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward e JM Polak, Editores, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Ata Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Informações de contacto

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

Histórico de revisões

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

Transferência para novo modelo com a marca atual. Especificação para utilização profissional na utilização prevista e nas precauções. Revisão da utilização prevista para alinhamento com as diretrizes do regulamento relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro (RDIV). Atualização de Folha de Dados de Segurança do Material para Folha de Dados de Segurança. Atualização das informações de contacto. Remoção da instrução para seguir o CLSI na colheita de amostras. Remoção da norma EN 980 e alteração para a norma EN ISO 15223-1:2021 nos símbolos. Adição de informações de contacto em caso de eventos adversos. Adição de Advertências e Perigos. Adicionadas informações CH-REP.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Οδηγίες χρήσης

Κιτ υπεροξειδάσης λευκοκυττάρων (μυελοϋπεροξειδάση)

Διαδικασία αρ. 391

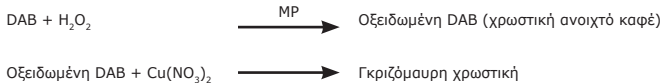


Προοριζόμενη χρήση

Το κιτ υπεροξειδάσης (μυελοϋπεροξειδάση) της Sigma-Aldrich προορίζεται για χρήση ως γενική εργαστηριακή ιστοχημική χρώση για την αναγνώριση της υπεροξειδάσης λευκοκυττάρων. Το κιτ υπεροξειδάσης (μυελοϋπεροξειδάση) προορίζεται μόνο για επαγγελματική «in vitro διαγνωστική χρήση». Αυτή η μη αυτόματη, ποιοτική διαδικασία αναγνωρίζει τα πολυμορφονουκλεοκύτταρα σε φιλμ αίματος ή μυελού των οστών ανθρώπινων δειγμάτων. Η ιστολογική οπτικοποίηση και η αναγνώριση πολυμορφονουκλεοκυττάρων είναι μια μοναδική τεχνική που επί του παρόντος χρησιμοποιείται ευρέως στην ιατρική.

Η διαμινοβενζιδίνη (DAB), ως υποκατάστατο της βενζιδίνης για την κυτταροχημεία της υπεροξειδάσης (μυελοϋπεροξειδάσης), έχει μικρότερη χρωστική ισχύ από τη βενζιδίνη.^{1,2} Αυτό είχε ως αποτέλεσμα η DAB να είναι πολύ λιγότερο ελκυστική για τους ιστοχημικούς. Ωστόσο, ο Hanker και οι συνεργάτες του βελτίωσαν τη μεθοδολογία της DAB, καθιστώντας τη πιο κατάλληλη για τη διαφοροποίηση των κοκκιοκυττάρων, των προδρόμων τους και των μονοκυττάρων από κύτταρα λεμφικής προέλευσης.³⁻⁶ Σύμφωνα με την τροποποίησή τους, το καφέ προϊόν αντίδρασης ενισχύεται πρώτα με άλατα χαλκού και ακολουθεί η εφαρμογή της τροποποιημένης χρώσης Παπανικολάου κατά Gill, με αποτέλεσμα έντονα γκριζομαυρά κοκκία στα σημεία μυελοϋπεροξειδάσης ουδετερόφιλων και μονοκυττάρων.⁷

Η διαδικασία της Sigma-Aldrich είναι παρόμοια με αυτή που αναπτύχθηκε από τον Hanker και περιλαμβάνει τις ακόλουθες αντιδράσεις:



Όταν υποβάλλεται σε επεξεργασία με την τροποποιημένη χρώση Παπανικολάου κατά Gill, το προϊόν της αντίδρασης γίνεται εντονότερο και προσδίδεται χαρακτηριστικό χρώμα στα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα και τα βασόφιλα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα στοιχεία που υποδεικνύουν την καρκινογόνο δράση της DAB είναι αμφίβολα και η ορθή εργαστηριακή πρακτική θα πρέπει να αποκλείει οποιονδήποτε πιθανό κίνδυνο.⁸

Αντιδραστήρια

Διαμινοβενζιδίνη (Αρ. καταλόγου 3911-1VL)

Τετραυδροχλωρική διαμινοβενζιδίνη, 25 mg/φιαλίδιο (10 φιαλίδια). Κίνδυνος. Υποπνο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων. Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση. Χρησιμοποιήστε μέσα ατομικής προστασίας όπως απαιτείται. Σε περίπτωση έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό.

Νιτρικός χαλκός (Αρ. καταλόγου 3912-1VL)

Νιτρικός χαλκός, 625 mg/φιαλίδιο (2 φιαλίδια). Κίνδυνος. Μπορεί να αναζωπυρώσει την πυρκαγιά: οξειδωτικό. Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη. Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς.

Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος TRIZMA® (Αρ. καταλόγου 3913-50ML)

Ρυθμιστικό διάλυμα TRIZMA®-HCl, 1,0 mol/L. Προειδοποίηση. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό.

Διάλυμα γλουταραλδεύδης (Αρ. καταλόγου 3802-75ML)

Γλουταραλδεύδη, 4%, και βορικό ρυθμιστικό διάλυμα, 67 mmol/L, pH 7,6. (2 x 75 mL)

Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 (αρ. καταλόγου GHS3-100ML)

Αιματοξυλίνη (νιστοποιημένη), C.I. 75290, 6 g/L, ιωδικό νάτριο, 0,6 g/L, θειικό αργίλιο, 52,8 g/L και σταθεροποιητής.

Τροποποιημένο διάλυμα EA Gill (Αρ. καταλόγου 3915-100ML)

Fast Green FCF (νιστοποιημένο), C.I. 42053, 0,017% (w/v), ηωσίνη Y (νιστοποιημένη), C.I. 45380, 0,4% (w/v), αλκοόλη, 73% (v/v), απόλυτη μεθυλική αλκοόλη, 25% (v/v), παγόμορφο οξικό οξύ, 2% (v/v) και φωσφοβόλφραμικό οξύ, 0,4% (w/v).

Συμπύκνωμα υποκατάστατου νερού βρύσης Scott (Αρ. καταλόγου S5134-100ML)

Περιέχει θειικό μαγνήσιο • 7H₂O, 200 g/L, διττανθρακικό νάτριο, 20 g/L, και συντηρητικό

Ειδικά υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Απόλυτη αιθανόλη
- Αιθανόλη, 95%
- Υπεροξείδιο του υδρογόνου, 1%
- Ακετόνη, αντιδραστήριο ACS
- Ξυλάνιο ή υποκατάστατο ξυλάνιου

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε το διάλυμα διαμινοβενζιδίνης και γλουταραλδεύδης σε ψυγείο (2–8 °C). Οι επικέτες των αντιδραστηρίων αναφέρουν την ημερομηνία λήξης. Φυλάσσετε τα άλλα αντιδραστήρια του κιτ σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Προστατεύστε το διάλυμα αιματοξυλίνης από το φως. Οι επικέτες αντιδραστηρίων για τον νιτρικό χαλκό και το τροποποιημένο διάλυμα EA Gill φέρουν ημερομηνία λήξης.

Φυλάσσετε το διάλυμα νιτρικού χαλκού και το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C). Φυλάσσετε το διάλυμα εργασίας TRIZMA® σε ψυγείο (2–8 °C). Εάν αναπτυχθεί θολρότητα, απορρίψτε το διάλυμα νιτρικού χαλκού, το συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος και το διάλυμα εργασίας TRIZMA®, το συμπύκνωμα και το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott.

Φυλάσσετε το μονιμοποιητικό γλουταραλδεύδης-ακετόνης με το καπάκι ερμητικά κλειστό σε ψυγείο (2–8 °C). Σταθερό για την προϋπόθεση ότι το pH κυμαίνεται από 7,2 έως 8,0.

Αλλοίωση

Απορρίψτε το διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, εάν το διάλυμα γίνει καφέ (οξειδωση από τον αέρα) ή μοβ (απώλεια οξύτητας).

Παρασκευή

Το διάλυμα νιτρικού χαλκού παρασκευάζεται διαλύοντας το περιεχόμενο 1 φιαλιδίου νιτρικού χαλκού σε 250 mL αποιονισμένου νερού.

Το διάλυμα εργασίας TRIZMA® (pH 7,6 ± 0,3) παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 όγκο συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος TRIZMA® με 9 όγκους αποιονισμένου νερού.

Το μονιμοποιητικό διάλυμα γλουταραλδεύδης-ακετόνης παρασκευάζεται προσθέτοντας 25 mL ακετόνης καθαρότητας αντιδραστηρίου σε 75 mL διαλύματος γλουταραλδεύδης.

Το διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott παρασκευάζεται αραιώνοντας 1 όγκο συμπυκνώματος υποκατάστατου νερού βρύσης Scott με 9 όγκους αποιονισμένου νερού.

Διηθήστε το διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3, πριν από τη 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 το μικροσκόπιο.

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

Διαδικασία

Συλλογή δειγμάτων

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

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν παρασκευάσματα αναρρόφησης μυελού των οστών, περιφερικού αίματος ή λευκής στιβάδας. Είτε η ηπαρίνη είτε το EDTA χρησιμεύουν ως ικανοποιητικό αντιπηκτικό.³ Τα μη μονιμοποιημένα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C), προστατευμένα από το φως, για αρκετούς μήνες χωρίς απώλεια δραστηριότητας.⁴

Σημείωση

Συνιστάται η επεξεργασία φιλμ αίματος που παρασκευάζονται από υγιείς δότες μαζί με δείγματα ασθενών για τον έλεγχο της απόδοσης του συστήματος.

Παρόλο που η μυελοϋπεροξειδάση θεωρείται γενικά δείκτης για κύτταρα μυελοκυτταρικής καταγωγής, είναι επιτακτική ανάγκη να αναγνωριστεί ότι και τα μονοκυτταροειδή κύτταρα μπορεί να εμφανίζουν ασθενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης.

Διαδικασία

1. Διαλύστε το περιεχόμενο 1 φιαλιδίου διαμινοβενζιδίνης σε 50 mL διαλύματος εργασίας TRIZMA®.
2. Ετοιμάστε μια σειρά από δοχεία χρώσης που περιέχουν τα ακόλουθα:
 - Μονιμοποιητικό διάλυμα γλουταραλδεύδης-ακετόνης
 - Διάλυμα διαμινοβενζιδίνης που παρασκευάστηκε στο Βήμα 1
 - Διάλυμα νιτρικού χαλκού
 - Διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3.
 - Διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott
 - Τροποποιημένο διάλυμα EA Gill
 - Δύο τρυβλία με 95% αιθανόλη
 - Δύο τρυβλία με απόλυτη αιθανόλη
 - Τρία τρυβλία με ξυλάνιο. Βλέπε ΣΗΜΕΙΩΣΗ μετά το Βήμα 18
3. Αμέσως πριν από τη μονιμοποίηση των αντικειμενοφόρων, προσθέστε 0,5 mL υπεροξειδίου του υδρογόνου 1% στο διάλυμα διαμινοβενζιδίνης που παρασκευάστηκε στο Βήμα 1. Αναμείξτε καλά.
4. Μονιμοποιήστε τις αντικειμενοφόρους στους 4–8 °C σε μονιμοποιητικό διάλυμα γλουταραλδεύδης-ακετόνης για 1 λεπτό.
5. Ξεπλύνετε για λίγο (30 δευτερόλεπτα) σε αποιονισμένο νερό.
6. Επώαστε για 45 δευτερόλεπτα στο διάλυμα διαμινοβενζιδίνης/υπεροξειδίου που παρασκευάστηκε στο Βήμα 3.
7. Ξεπλύνετε για λίγο (30 δευτερόλεπτα) σε αποιονισμένο νερό.
8. Εμβάψτε σε διάλυμα νιτρικού χαλκού για 2 λεπτά με ήπια ανάδευση.
9. Ξεπλύνετε για λίγο (30 δευτερόλεπτα) σε αποιονισμένο νερό.
10. Εμβάψτε σε διάλυμα αιματοξυλίνης, Gill αρ. 3 για 8 δευτερόλεπτα (4 βυθίσεις).
11. Ξεπλύνετε σε αποιονισμένο νερό, αλλάζοντας το νερό 2 φορές, για 5 δευτερόλεπτα με ανάδευση.
12. Εμβάψτε σε διάλυμα εργασίας υποκατάστατου νερού βρύσης Scott για 12 δευτερόλεπτα (6 βυθίσεις).
13. Ξεπλύνετε σε αποιονισμένο νερό, αλλάζοντας το νερό 2 φορές, για 5 δευτερόλεπτα.
14. Εμβάψτε σε τροποποιημένο διάλυμα EA Gill για 1 λεπτό.
15. Ξεπλύνετε σε 95% αιθανόλη, αλλάζοντας την αιθανόλη 2 φορές, για 3 δευτερόλεπτα κάθε φορά.
16. Ξεπλύνετε σε απόλυτη αιθανόλη, αλλάζοντας την αιθανόλη 2 φορές, για 3 δευτερόλεπτα κάθε φορά.
17. Ξεπλύνετε σε ξυλάνιο, αλλάζοντας το ξυλάνιο 3 φορές, για 3 δευτερόλεπτα κάθε φορά.
18. Τοποθετήστε σε μόνιμα μέσα κάλυψης και εξετάστε μικροσκοπικά. Το χρώμα θα εξασθενήσει εάν δεν καλυφθούν οι αντικειμενοφόροι.

Σημείωση

Η διαδικασία μπορεί να συντομευτεί καταργώντας τα βήματα 14–17. Η υπεροξειδάση των ηωσινοφίλων θα εμφανιστεί με σκούρο κόκκινο-καφέ χρώμα αντί για κόκκινο-πορτοκαλί. Εάν χρησιμοποιηθεί τροποποιημένο διάλυμα EA Gill, πρέπει να συμπεριληφθεί η έκλυση με αλκοόλη και ξυλάνιο.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Τα ουδετερόφιλα και οι πρόδρομοί τους εμφανίζουν γκριζομαυρή ενδοκυτταρική κοκκίωση. Τα μονοκύτταρα χρωματίζονται λιγότερο έντονα. Τα ηωσινόφιλα χρωματίζονται με κόκκινο-πορτοκαλί, ενώ τα βασόφιλα με μπλε. Τα λεμφοκύτταρα δεν εμφανίζουν δραστηριότητα υπεροξειδάσης.

Τα φιλμ αίματος που παρασκευάστηκαν από υγιείς δότες χρωματίστηκαν για μυελοϋπεροξειδάση σύμφωνα με αυτήν τη διαδικασία και με μια μέθοδο βενζιδίνης.⁴ Τα ουδετερόφιλα εμφάνισαν καφέ-μαύρη κοκκίωση με αυτήν τη διαδικασία και μπλε κοκκίωση με τη διαδικασία της βενζιδίνης. Και στις δύο περιπτώσεις, τα μονοκύτταρα χρωματίστηκαν λιγότερο έντονα και τα λεμφοκύτταρα δεν έδειξαν δραστηριότητα μυελοϋπεροξειδάσης.

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

Χαρακτηριστικά απόδοσης της ανάλυσης

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

Αρ. κατα-λόγου	Περιγραφή προϊόντος	Στόχος	Ειδικότητα εντός της ανάλυσης	Ευαισθησία εντός της ανάλυσης	Ειδικότητα μεταξύ των αναλύσεων	Ευαισθησία μεταξύ των αναλύσεων
3911	Διαμινοβενζιδίνη	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3912	Νιτρικός χαλκός	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3913	Συμπύκνωμα ρυθμι-στικού διαλύματος TRIZMA®	Οσμωτικό-τητα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		pH	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3802	Διάλυμα γλουταραλδεϋδης	Σημεία δραστηρι-ότητας	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
GHS3	Διάλυμα αιματοξυλι-νης, Gill αρ. 3	Πυρήνες	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
3915	Τροποποιημένο διάλυμα ΕΑ Gill	Κυτταρό-πλάσμα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
S5134	Συμπύκνωμα υπο-κατάστατου νερού βρύσης Scott	Οσμωτικό-τητα	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3
		pH	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3	3 στα 3

Προειδοποιήσεις και κίνδυνοι

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

391A:



H225 Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα.

H272 Μπορεί να αναζωπυρώσει την πυρκαγιά· οξειδωτικό.

H290 Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα.

H302 + H312 + H332 Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης, σε επαφή με το δέρμα ή σε περίπτωση εισπνοής.

H315 Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος.

H317 Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

H318 Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη.

H334 Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής.

H335 Μπορεί να προκαλέσει ερεθισμό της αναπνευστικής οδού.

H341 Ύποπτο για πρόκληση γενετικών ελαττωμάτων.

H350 Μπορεί να προκαλέσει καρκίνο.

H360 Μπορεί να βλάψει τη γονιμότητα. Μπορεί να βλάψει το έμβρυο.

H370 Προκαλεί βλάβες στα όργανα.

H373 Μπορεί να προκαλέσει βλάβες στα όργανα ύστερα από παρατεταμένη ή επανειλημμένη έκθεση, σε περίπτωση κατάποσης.

H410 Πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

P201 Εφοδιαστείτε με τις ειδικές οδηγίες πριν από τη χρήση.

P210 Μακριά από θερμότητα, θερμές επιφάνειες, σπινθήρες, γυμνές φλόγες και άλλες πηγές ανάφλεξης. Μην καπνίζετε.

P220 Να φυλάσσεται μακριά από ενδύματα και άλλα καύσιμα υλικά.

P260 Μην αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.

P273 Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

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

P304 + P340 + P312 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Μεταφέρετε τον παθόντα στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό, αν αισθανθείτε αδιαθεσία.

P305 + P351 + P338 + P310 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Αν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, αν είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. Καλέστε αμέσως το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P308 + P311 ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ έκθεσης ή πιθανής έκθεσης: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ/γιατρό.

P370 + P378 Σε περίπτωση πυρκαγιάς: Χρησιμοποιήστε ξηρή άμμο, ξηρό χημικό ή ανθεκτικό στο αλκοόλ αφρό για να κατασβήσετε.

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

Ορισμοί συμβόλων

Σύμβολα όπως ορίζονται στο EN ISO 15223-1:2021

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

Βιβλιογραφικές αναφορές

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Πληροφορίες επικοινωνίας

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

Ιστορικό αναθεωρήσεων

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

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

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

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

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

Használati utasítás

Leukocita-peroxidáz (mieloperoxidáz) készlet

391. sz. eljárás



Rendeltetésszerű használat

A Sigma-Aldrich peroxidáz (mieloperoxidáz) készlet a leukocita-peroxidáz kimutatására szolgáló általános laboratóriumi hisztokémiai festék. A peroxidáz (mieloperoxidáz) készlet kizárólag professzionális „*in vitro* diagnosztikai felhasználásra” szolgál. Ez a manuális, kvalitatív eljárás az emberi vér- és csontvelőkenetekben található polimorfonukleocitákat azonosítja. A polimorfonukleociták szövettani megjelenítése és azonosítása egy egyedülálló, az orvostudományban jelenleg általánosan használt technika.

A diaminobenzidin (DAB) – mint a peroxidáz (mieloperoxidáz) citokémiai tesztekben a benzidint helyettesítő anyag – gyengébb festőerővel rendelkezik, mint a benzidin.^{1,2} Emiatt a DAB sokkal kevésbé vonzó megoldás a hisztokémikusok számára. Hanker és munkatársai azonban továbbfejlesztették a DAB-módszert, így az alkalmasabbá vált a granulociták, prekursoraik és a monociták limfoid eredetű sejtektől történő megkülönböztetésére.³⁻⁶ Módosításaik alapján a barna reakcióterméket először rézsókkal teszik intenzívebbé, majd Gill-féle módosított Papanicolaou-festést alkalmaznak, ami intenzív szürke-fekete szemcsézettséget eredményez a neutrofil és monocita mieloperoxidáz aktivitási helyein.⁷

A Sigma-Aldrich eljárása hasonlít a Hanker által kifejlesztett eljáráshoz, és a következő reakciókat foglalja magában:



Gill-féle módosított Papanicolaou festéssel kezelve a reakciótermék színe még intenzívebbé válik, és jellemző színt kölcsönöz a neutrofil, eozinofil és bazofil sejteknek. Meg kell jegyezni, hogy a DAB rákkeltő hatására utaló bizonyítékok nem egyértelműek, és a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazásával ki kell zárni minden lehetséges veszélyt.⁸

Reagens

Diaminobenzidin (kat. sz.: 3911-1VL)

Diaminobenzidin-tetrahidroklorid, 25 mg/10 ml (10 mg/10 ml). Veszély. Feltehetően genetikai károsodást okoz. Rákot okozhat. Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Szükség szerint használjon egyéni védőfelszerelést. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni.

Réz-nitrát (kat. sz.: 3912-1VL)

Réz-nitrát, 625 mg/10 ml (2 mg/10 ml). Veszély. Fokozhatja a tűz intenzitását; oxidáló hatású. Lenyelve ártalmas. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemkárosodást okoz. Nagyon mérgező a vízi élővilágra.

TRIZMA® pufferkoncentrátum (kat. sz.: 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl puffer, 1,0 mol/l. Figyelmeztetés. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz.

Glutáraldehid oldat (kat. sz.: 3802-75ML)

Glutáraldehid, 4%; és borátpuffer, 67 mmol/l, pH-érték: 7,6. (2 x 75 ml)

Hematoxilinolod, Gill III (kat. sz.: GHS3-100ML)

Hematoxilín (tanúsított), C.I. 75290, 6 g/l; nátrium-jodát, 0,6 g/l; alumínium-szulfát, 52,8 g/l és stabilizálószer.

Gill-féle módosított EA oldat (kat. sz.: 3915-100ML)

Fast Green FCF (tanúsított), C.I. 42053, 0,017% (w/v); eozin Y (tanúsított), C.I. 45380, 0,4% (w/v); alkohol, 73% (v/v); abszolút metil-alkohol, 25% (v/v); jégacet, 2% (v/v) és foszfor-wolframsav, 0,4% (w/v).

Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum (kat. sz.: S5134-100ML)

Magnézium-szulfátot tartalmaz • 7H₂O, 200 g/l, nátrium-hidrogén-karbonát, 20 g/l és tartósítószer

Szükséges, de nem biztosított speciális anyagok

- Abszolút etanol
- Etanol, 95%
- Hidrogén-peroxid, 1%
- Aceton, ACS-reagensminőség
- Xilol vagy xilolt helyettesítő anyag

Tárolás és stabilitás

A diaminobenzidin és glutáraldehid oldatot hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni. A lejárati idő a reagenscímkéken szerepel. A készlet egyéb reagensit szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A hematoxilinolodot védeni kell a fénytől. A réz-nitrát és a Gill-féle módosított EA oldat esetén a reagenscímkéken található a lejárati idő.

A réz-nitrát oldatot és Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaidőket szobahőmérsékleten (18–26 °C) kell tárolni. A TRIZMA® munkaidőket hűtőszekrényben (2–8 °C) kell tárolni. Ha zavarosság alakul ki bennük, dobja ki a réz-nitrát oldatot, a TRIZMA® pufferkoncentrátumot és munkaidőket, a Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot és munkaidőket.

A glutáraldehid-aceton fixáló szorosan lezárva, hűtőszekrényben (2–8 °C) tárolandó. Stabil abban az esetben, ha a pH-érték 7,2 és 8,0 között van.

Bomlás

Ha az oldat barnára (levegőn történő oxidáció) vagy lilára (savasság elvesztése) változik, dobja ki a Gill III-as hematoxilinolodot.

Előkészítés

A réz-nitrát oldat 1 fl. tartalmának 250 ml ioncserélt vízben történő feloldásával készíthető el.

A TRIZMA® munkaidőket (pH: 7,6 ± 0,3) elkészítéséhez hígítson 1 térfogatrészt TRIZMA® pufferkoncentrátumot 9 térfogatrészt ioncserélt vízzel.

Készítse el a glutáraldehid-aceton fixálót 25 ml reagensminőségű aceton 75 ml glutáraldehid oldathoz való hozzáadásával.

A Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaidőket elkészítéséhez hígítson 1 rész Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátumot 9 rész ioncserélt vízzel.

Használat előtt szűrje le a Gill III-as hematoxilinolodot.

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

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

Eljárás

Mintavétel

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

Csontvelő-aspirátum, perifériás vér vagy határtegrégből (buffy coat) kinyert preparátumok használhatók. A heparin vagy az EDTA megfelelő antikoagulánsként szolgál.³ A nem fixált minták több hónapig tárolhatók aktivitásvesztés nélkül szobahőmérsékleten (18–26 °C), fénytől védve.⁴

Megjegyzés

A rendszer teljesítményének ellenőrzése céljából ajánlatos egészséges donoroktól származó vérkeneteket is feldolgozni a betegmintákkal együtt.

Bár a mieloperoxidáz általában a mielocitikus sejtvonal markerének tekintik, fontos figyelembe venni, hogy a monocitoid sejtek is mutathatnak gyenge peroxidázaktivitást.

Eljárás

- Oldja fel 1 db diaminobenzidin fl. tartalmát 50 ml TRIZMA® munkaidőben.
- Állítson fel egy sor festőedényt, amelyek a következőket tartalmazzák:
 - Glutáraldehid-aceton fixáló
 - Az 1. lépésben elkészített diaminobenzidin oldat
 - Réz-nitrát oldat
 - Hematoxilinolod, Gill III
 - Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaidő
 - Gill-féle módosított EA oldat
 - Két edény 95%-os etanollal
 - Két edény abszolút etanollal
 - Három edény xilollal. Lásd a 18. lépést követő MEGJEGYZÉST
- Közvetlenül a lemezek fixálása előtt adjon 0,5 ml 1%-os hidrogén-peroxidot az 1. lépésben elkészített diaminobenzidin oldathoz. Jól keverje össze.
- Fixálja a tárgylemezeket 4–8 °C-on glutáraldehid-aceton fixálóban 1 percig.
- Rövid ideig (30 másodpercig) öblítsen ioncserélt vízzel.
- Inkubálja a lemezeket 45 másodpercig a 3. lépésben előkészített diaminobenzidin-peroxid oldatban.
- Rövid ideig (30 másodpercig) öblítsen ioncserélt vízzel.
- Merítse a lemezeket réz-nitrát oldatba 2 percig, óvatos keveréssel.
- Rövid ideig (30 másodpercig) öblítsen ioncserélt vízzel.
- Merítse őket Gill III-as hematoxilinolodba 8 másodpercig (4 merítés).
- Öblítse a lemezeket 2 külön adag ioncserélt vízzel 5 másodpercig, keverés mellett.
- Merítse őket 12 másodpercig (6 merítés) Scott-féle csapvíz-helyettesítő munkaidőbe.
- Öblítse a lemezeket 2 külön adag ioncserélt vízzel 5 másodpercig.
- Merítse őket a Gill-féle módosított EA oldatba 1 percre.
- Öblítsen 2 külön adag 95%-os etanollal egyenként 3 másodpercig.
- Öblítsen 2 külön adag abszolút etanollal 3-3 másodpercig.
- Öblítsen 3 külön adag xilollal 3-3 másodpercig.
- Fedje be a lemezeket az állandó fedőközzel, és végezzen mikroszkopos vizsgálatot. Ha a tárgylemezek nincsenek lefedve, a színük elhalványul.

Megjegyzés

Az eljárás lerövidíthető a 14–17. lépések kihagyásával. Az eozinofil peroxidáz sötétvörös-barna színben jelenik meg vörös-narancs helyett. A Gill-féle módosított EA oldat használata esetén az alkoholos és xilolos öblítést is el kell végezni.

Teljesítményjellemzők

A neutrofil sejtek és prekursoraik szürke-fekete intracelluláris szemcsézettséget mutatnak.

A monociták kevésbé intenzíven festődnek. Az eozinofil sejtek vörös-narancs színűek, míg a bazofil sejtek kék színűen festődnek. A limfociták nem mutatnak peroxidázaktivitást.

A normál donoroktól származó vérkeneteket ennek az eljárásnak megfelelően és egy benzidint alkalmazó módszerrel festették meg a mieloperoxidáz kimutatására.¹ A neutrofil sejtek barna-fekete szemcsézettséget mutattak ezzel az eljárással és kék szemcsézettséget a benzidines eljárással. Mindkét esetben a monociták kevésbé intenzíven festődtek, a limfociták pedig nem mutattak mieloperoxidáz-aktivitást.

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

Analitikai teljesítményjellemzők

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

Kat. sz.	Termékleírás	Cél	Tesztben belüli specificitás	Tesztben belüli érzékenység	Tesztek közötti specificitás	Tesztek közötti érzékenység
3911	Diaminobenzidin	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3912	Réz-nitrát	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
3913	TRIZMA® pufferkoncentrátum	Ozmolalitás	3/3	3/3	3/3	3/3
		pH	3/3	3/3	3/3	3/3
3802	Glutáraldehid oldat	Aktivitás helye	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3	Hematoxilinoldat, Gill III	Sejtmagok	3/3	3/3	3/3	3/3
3915	Gill-féle módosított EA oldat	Citoplazma	3/3	3/3	3/3	3/3
S5134	Scott-féle csapvíz-helyettesítő koncentrátum	Ozmolalitás	3/3	3/3	3/3	3/3
		pH	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.

391A:



H225 Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H272 Fokozhatja a tűz intenzitását; oxidáló hatású.

H290 Fémekre korrozív hatású lehet.

H302 + H312 + H332 Lenyelve, bőrrel érintkezve vagy belélegezve ártalmas.

H315 Bőrirritáló hatású.

H317 Allergiás bőrreakciót válthat ki.

H318 Súlyos szemkárosodást okoz.

H334 Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat.

H335 Légúti irritációt okozhat.

H341 Feltehetően genetikai károsodást okoz.

H350 Rákot okozhat.

H360 Károsíthatja a termékenységet. Károsíthatja a születendő gyermeket.

H370 Károsíthatja a szerveket.

H373 Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén lenyelve károsíthatja a szerveket.

H410 Nagyon mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

P201 Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.

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

P220 Ruhától és más éghető anyagoktól távol tartandó.

P260 A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegezése tilos.

P273 Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

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

P305 + P351 + P338 + P310 SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P308 + P311 Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P370 + P378 Tűz esetén: Oltásra száraz homok, száraz vegyszer vagy alkoholálló hab használandó.

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

Jelmagyarázat

Az EN ISO 15223-1:2021 szabványban meghatározott jelek

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

Hivatkozások

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemistry and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Elérhetőségek

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

Átdolgozási előzmények

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

Áthelyezve az új sablonba a jelenlegi márkajelzéssel. A professzionális használatra vonatkozó megállapítás leírása a rendeltetésszerű használat és az óvintézkedések részekben. A rendeltetésszerű használatra vonatkozó részek átdolgozása az IVDR irányelveknek való megfelelés érdekében. Az Anyagbiztonsági adatlap frissítése Biztonsági adatlapra. Az elérhetőségek frissítése. A mintagyűjtés során a CLSI követésére vonatkozó utasítás eltávolítása. Az EN 980-as szabvány szerinti jelzések eltávolítása és az EN ISO 15223-1:2021 szabvány jelzéseire változtatása. A nemkívánatos eseményekkel kapcsolatos elérhetőségek hozzáadása. Figyelmeztetések és veszélyek hozzáadása. A CH-REP információ hozzáadva.

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

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

Návod k použití

Souprava pro leukocytární peroxidázu (myeloperoxidázu)

Postup č. 391



Určené použití

Souprava Sigma-Aldrich peroxidáza (myeloperoxidáza) je určena k použití jako obecné laboratorní histochemické barvivo k průkazu leukocytární peroxidázy. Souprava peroxidázy (myeloperoxidázy) je určena pouze pro profesionální „diagnostické použití in vitro“. Tento manuál, kvalitativní postup identifikuje polymorfonukleocyty v krvi nebo kostní dřeně lidských vzorků. Histologická vizualizace a identifikace polymorfonukleotidů je unikátní technikou, která se v současnosti v medicíně běžně používá.

Diaminobenzidin (DAB), jako náhrada benzidinu pro cytochemii peroxidázy (myeloperoxidázy), má nižší tinktorální sílu než benzidin.^{1,2} Proto je DAB mnohem méně atraktivní pro histochemiky. Hanker a jeho spolupracovníci však zlepšili metodiku DAB, takže je vhodnější pro odlišení granulocytů, jejich prekursorů a monocytů od buněk lymfatického původu.³⁻⁶ Podle jejich modifikace je hnědý reakční produkt nejprve zintenzivněn měďnatými solemi a poté následuje aplikace Gillem modifikovaného barviva Papanicolaou, což má za následek intenzivní šedočerné granule v místech neutrofilů a monocytární myeloperoxidázy.⁷

Postup společnosti Sigma-Aldrich je podobný postupu, který vyvinul Hanker a který zahrnuje následující reakce:



Při ošetření Gillem modifikovaným barvivem Papanicolaou je reakční produkt dále zesílen a charakteristická barva je předána neutrofilům, eozinofilům a bazofilům. Je třeba poznamenat, že důkazy svědčící o karcinogenitě DAB jsou nejednoznačné a že správná laboratorní praxe by měla vyloučit jakékoli potenciální nebezpečí.⁸

Činidla

Diaminobenzidin (kat. č. 3911-1VL)

Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid, 25 mg v lahvičce (10 lahviček). Nebezpečí. Podezření na genetické vady. Může způsobit rakovinu. Před použitím si přečtěte zvláštní návod. Podle potřeby používejte osobní ochranné prostředky. Při expozici nebo znepokojení: Vyhledejte lékařskou pomoc.

Dusičnan měďnatý (kat. č. 3912-1VL)

Dusičnan měďnatý, 625 mg v lahvičce (2 lahvičky). Nebezpečí. Může zesílit oheň; oxidační činidlo. Zdraví škodlivý při požití. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné poškození očí. Velmi toxický pro vodní organismy.

Pufrační koncentrát TRIZMA® (kat. č. 3913-50ML)

Pufr TRIZMA®-HCl, 1,0 mol/l. Varování. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí.

Roztok glutaraldehydu (kat. č. 3802-75ML)

Glutaraldehyd, 4%, a boritanový pufr, 67 mmol/l, pH 7,6 (2 x 75 ml)

Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 (kat. č. GHS3-100ML)

Hematoxylin (certifikovaný), C.I. 75290, 6 g/l, jodičnan sodný, 0,6 g/l, síran hlinitý, 52,8 g/l, a stabilizátor.

Gillem modifikovaný roztok EA (kat. č. 3915-100ML)

Fast Green FCF (certifikovaný), C.I. 42053, 0,017% (m/v), Eosin Y (certifikovaný), C.I. 45380, 0,4% (m/v), alkohol, 73% (v/v), absolutní methylalkohol, 25% (v/v), ledová kyselina octová, 2% (v/v) a kyselina fosforečná, 0,4% (m/v).

Scottův koncentrát nahrazující vodu z vodovodu (kat. č. SS134-100ML)

Obsahuje síran hořečnatý • 7H₂O, 200 g/l, hydrogenuhlíčan sodný, 20 g/l, a konzervační přísada

Potřebné speciální materiály, které nejsou součástí dodávky

- Absolutní ethanol
- Ethanol, 95%
- Peroxid vodíku, 1%
- Aceton, ACS činidlo
- Xylen nebo náhražka xylenu

Skladování a stabilita

Uchovávejte diaminobenzidin a roztok glutaraldehydu v chladničce (2–8 °C). Na štítcích činidel je uvedeno datum spotřeby. Uchovávejte ostatní činidla soupravy při pokojové teplotě (18–26 °C). Chraňte roztok hematoxylinu před světlem. Na štítcích činidel pro dusičnan měďnatý a Gillem modifikovaný roztok EA je uvedeno datum spotřeby.

Uchovávejte roztok dusičnanu měďnatého a Scottův pracovní roztok nahrazující vodu z vodovodu při pokojové teplotě (18–26 °C). Uchovávejte pracovní roztok TRIZMA® v chladničce (2–8 °C). Pokud se objeví zákal, roztok dusičnanu měďnatého, pufrační koncentrát a pracovní roztok TRIZMA®, Scottův koncentrát nahrazující vodu z vodovodu a pracovní roztok zlikvidujte.

Uchovávejte fixační prostředek glutaraldehyd-aceton pevně zasklávaný v chladničce (2–8 °C). Stabilní, pokud je pH v rozmezí 7,2 až 8,0.

Znehodnocení

Zlikvidujte roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3, pokud se jeho barva změní na hnědou (oxidace vzduchu) nebo fialovou (ztráta kyselosti).

Příprava

Roztok dusičnanu měďnatého se připravuje rozpuštěním obsahu 1 lahvičky dusičnanu měďnatého v 250 ml deionizované vody.

Pracovní roztok TRIZMAL® (pH 7,6 ± 0,3) se připraví zředěním 1 objemu pufračního koncentráту TRIZMA® 9 objemy deionizované vody.

Fixační roztok glutaraldehyd-aceton se připraví tak, že přidáte 25 ml acetonu reagenční čistoty do 75 ml roztoku glutaraldehydu.

Pracovní roztok Scottovy náhražky vody z vodovodu se připraví zředěním 1 objemu Scottova koncentrátu nahrazujícího vodu z vodovodu 9 objemy deionizované vody.

Před použitím roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3 přefiltrujte.

Bezpečnostní opatření

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

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

Postup

Odběr vzorků

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

Lze použít aspirát kostní dřeně, periferní krev nebo buffy coat přípravek. Heparin nebo EDTA slouží jako dostatečné antikoagulační činidlo.³ Nefixované vzorky mohou být skladovány při pokojové teplotě (18–26 °C), chráněné před světlem, po dobu několika měsíců bez ztráty aktivity.⁴

Poznámka

Doporučuje se, aby společně se vzorky pacientů byly zpracovány krevní nátěry od zdravých dárců s cílem sledovat funkčnost systému.

Ačkoli myeloperoxidáza je obecně považována za marker pro buňky myelocytární linie, je nezbytné si uvědomit, že monocytoidní buňky mohou také vykazovat slabou peroxidázovou aktivitu.

Postup

- Obsah 1 lahvičky diaminobenzidinu rozpustíte v 50 ml pracovního roztoku TRIZMA®.
- Připravte sérii nádob na barvení obsahující následující:
 - Fixační roztok glutaraldehyd-aceton
 - Roztok diaminobenzidinu připravený v kroku 1
 - Roztok dusičnanu měďnatého
 - Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3.
 - Pracovní roztok Scottovy náhražky vody z vodovodu
 - Gillem modifikovaný roztok EA
 - Dvě misky s 95% ethanolem
 - Dvě misky s absolutním ethanol
 - Tři misky s xylenem. Viz POZNÁMKA následující po kroku 18
- Bezprostředně před fixací sklíček přidejte 0,5 ml 1% peroxidu vodíku do roztoku diaminobenzidinu připraveného podle kroku 1. Dobře promíchejte.
- Fixujte sklíčka při teplotě 4–8 °C ve fixačním roztoku glutaraldehyd-aceton po dobu 1 minuty.
- Krátce opláchněte (30 sekund) v deionizované vodě.
- Incubujte 45 sekund v roztoku diaminobenzidinu/peroxidu připraveném podle kroku 3.
- Krátce opláchněte (30 sekund) v deionizované vodě.
- Ponořte do roztoku dusičnanu měďnatého na 2 minuty za mírného protřepávání.
- Krátce opláchněte (30 sekund) v deionizované vodě.
- Ponořte do roztoku hematoxylinu podle Gilla č. 3 na 8 sekund (4x namočte).
- Opláchněte ve 2 výměnách deionizované vody po dobu 5 sekund za současněho promíchávání.
- Ponořte na 12 sekund (6x namočte) do pracovního roztoku Scottovy náhražky vody z vodovodu.
- Opláchněte ve 2 výměnách deionizované vody po dobu 5 sekund.
- Ponořte na 1 minutu do Gillem modifikovaného roztoku EA.
- Opláchněte ve 2 výměnách 95% ethanolu, vždy po 3 sekundách.
- Opláchněte ve 2 výměnách absolutního ethanolu, vždy po 3 sekundách.
- Opláchněte ve 3 výměnách xylenu, vždy po 3 sekundách.
- Zamontujte do permanentního montážního média a mikroskopicky zkontrolujte. Pokud nejsou sklíčka zamontována, barva vybledne.

Poznámka

Postup lze zkrátit odstraněním kroků 14–17. Peroxidáza eozinofilů bude mít místo červeno-oranžové tmavě červeno-hnědou barvu. Pokud je použit Gillem modifikovaný roztok EA, musí být zahrnuto opláchnutí alkoholem a xylenem.

Pracovní charakteristiky

Neutrofilů a jejich prekursorů vykazují šedočernou intracelulární granulaci. Monocyty se obarvují méně intenzivně. Eozinofily se obarvují červeno-oranžově, zatímco bazofily se zbarvují modře. Lymfocyty nevykazují peroxidázovou aktivitu.

Krevní nátěry od normálních dárců byly obarveny na myeloperoxidázu tímto postupem a benzidinovou metodou.¹ Neutrofilové prokázaly hnědočernou granulaci u tohoto postupu a modrou granulaci u benzidinového postupu. V obou případech byly monocyty barveny méně intenzivně a lymfocyty nevykazovaly aktivitu myeloperoxidázy.

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

Analytické pracovní charakteristiky

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

Kat. č.	Popis produktu	Cíl	Specifičnost v rámci testu	Citlivost v rámci testu	Specifičnost mezi testy	Citlivost mezi testy
3911	Diaminobenzidin	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3912	Dusičnan měďnatý	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3913	Pufrační koncentrát TRIZMA®	Osmolalita	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		pH	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3802	Roztok glutaraldehydu	Místa aktivity	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
GHS3	Roztok hematoxylinu podle Gilla č. 3	Jádra	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
3915	Gillem modifikovaný roztok EA	Cytoplazma	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
S5134	Scottův koncentrát nahrazující vodu z vodovodu	Osmolalita	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3
		pH	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3	3 ze 3

Varování a rizika

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

391A:



- H225 Vysoce hořlavá kapalina a páry.
- H272 Může zesílit oheň; oxidační činidlo.
- H290 Může být korozivní pro kovy.
- H302 + H312 + H332 Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží nebo při vdechování.
- H315 Způsobuje podráždění kůže.
- H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci.
- H318 Způsobuje vážné poškození očí.
- H334 při vdechování může způsobit příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.
- H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest.
- H341 Podezření na genetické vady.
- H350 Může způsobit rakovinu.
- H360 Může poškodit plodnost. Může poškodit nenarozené dítě.
- H370 Způsobuje poškození orgánů.
- H373 Může způsobit poškození orgánů při dlouhodobé nebo opakované expozici při požití.
- H410 Velmi toxický pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
- P201 Před použitím si přečtěte zvláštní návod.
- P210 Uchovávejte mimo dosah tepla, horkých povrchů, jisker, otevřeného ohně a jiných zdrojů vznícení. Zákaz kouření.
- P220 Uchovávejte mimo dosah oděvů a jiných hořlavých materiálů.
- P260 Nedýchejte prach / dým / plyn / mlhu / výpary / aerosol.
- P273 Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
- P280 Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranu očí / ochranu obličeje.
- P304 + P340 + P312 PŘI VDECHNUTÍ: Odvedte postiženého na čerstvý vzduch a zajistěte mu pohodlné dýchání. Pokud se necítíte dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ středisko / lékaře.
- P305 + P351 + P338 + P310 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, pokud jsou nasazené a dají se snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P308 + P311 Při expozici nebo znepokojení: Volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P370 + P378 V případě požáru: K hašení použijte suchý písek, suchou chemickou nebo alkoholově odolnou pěnu.

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

Definice symbolů

Symboły definované v normě EN ISO 15223-1:2021

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

Reference

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochn Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histocytochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Kontaktní informace

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

Historie revizí

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

Přeneseno do nové šablony s aktuálním značením. Určeno pro profesionální použití v rámci určeného použití a bezpečnostních opatření. Revidované určené použití k dosažení souladu s pokyny IVDR. Aktualizovaný bezpečnostní list materiálu k bezpečnostnímu listu. Aktualizované kontaktní informace. Odstraněn pokyn k dodržení CLSI pro odběr vzorků. Odstraněna norma EN 980 a změněna na normu EN ISO 15223-1:2021 pro symboly. Přidány kontaktní informace pro případ nežádoucí události. Přidána varování a rizika. Přidány informace CH-REP.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Bruksanvisning

Leukocytpperoksidase (myeloperoksidase)-sett

Prosedyre nr. 391

**Tiltenkt bruk**

Sigma-Aldrich leukocytpperoksidase (myeloperoksidase)-sett er beregnet for histokjemisk påvisning av leukocytpperoksidase. Leukocytpperoksidase (myeloperoksidase)-sett er kun for profesjonell "in vitro diagnostisk bruk". Denne manuelle, kvalitative prosedyren identifiserer polymorfonukleocytt i blod- og benmargsfilmer fra humane prøver. Histologisk visualisering av polymorfonukleocytt er en unik teknikk som ofte brukes innen medisin.

Diaminobenzidin (DAB), som en benzidinerstatning for peroksidase (myeloperoksidase)-cytokjemi, har mindre fargestyrke enn benzidin.^{1,2} Dette gjorde DAB mye mindre attraktivt for histokjemikere. Harker et al forbedret imidlertid DAB-metoden, noe som gjorde den mer egnet for å differensiere granulocytter, deres forløpere og monocytter fra celler av lymfoid opprinnelse.³⁻⁶ I henhold til deres modifikasjon blir det brune reaksjonsproduktet først forsterket med kobbersalter etterfulgt av påføring av Gills modifiserte Papanicolaou-fargeløsning, noe som resulterer i intense grå-svarte granuler på steder med nøytrofil- og monocytmyeloperoksidase.⁷

Sigma-Aldrich-prosedyren ligner den utviklet av Harker, og involverer følgende reaksjoner:



Når det behandles med Gills modifiserte Papanicolaou-fargeløsning, blir reaksjonsproduktet ytterligere forsterket og karakteristisk farge blir gitt til nøytrofiler, eosinofiler og basofiler. Det bør bemerkes at holddepunkter som indikerer karsinogeniteten til DAB, er tvetydige, og god laboratoriepraksis skal utelukke enhver potensiell fare.⁸

Reagenser

Diaminobenzidin (kat.nr. 3911-1VL)

Diaminobenzidintetrahydroklorid, 25 mg/hetteglass (10 hetteglass). Fare. Mistenkt å forårsake genetiske defekter. Kan forårsake kreft. Innhent særskilt instruks for bruk. Bruk personlig verneutstyr etter behov. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp.

Kobbernitrat (kat.nr. 3912-1VL)

Kobbernitrat, 625 mg/hetteglass (2 hetteglass). Fare. Kan forsterke brann; oksiderende. Farlig ved svelging. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeskade. Meget giftig for liv i vann.

TRIZMA®-bufferkonsentrat (kat.nr. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl-buffert, 1,0 mol/l. Advarsel. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeirritasjon.

Glutaraldehydløsning (kat.nr. 3802-75ML)

Glutaraldehyd, 4 % og boratbuffer, 67 mmol/l, pH 7,6 (2 x 75 ml)

Hematoksylinløsning, Gill-nr. 3 (kat.nr. GHS3-100ML)

Hematoksylin (sertifisert), C.I. 75290, 6 g/l, natriumjodat, 0,6 g/l, aluminiumsulfat, 52,8 g/l og stabiliseringsmiddel.

Gill-modifisert EA-løsning (kat.nr. 3915-100ML)

Fast Green FCF (sertifisert), C.I. 42053, 0,017 % (vekt/volum), eosin Y (sertifisert), C.I. 45380, 0,4 % (vekt/volum), alkohol, 73 % (volum/volum), absolutt metylalkohol, 25 % (volum/volum), iseddiksyre, 2 % (volum/volum) og fosforwolframsyre, 0,4 % (vekt/volum).

Scotts konsentrat til kravnanserstatning (kat.nr. S5134-100ML)

Inneholder magnesiumsulfat • 7H₂O, 200 g/l, natriumbikarbonat, 20 g/l og konserveringsmiddel

Spesielle materialer som kreves, men som ikke medfølger

- Absolutt etanol
- Etanol, 95 %
- Hydrogenperoksid, 1 %
- Aceton, ACS-reagens
- Xylen eller xylenestatning

Oppbevaring og stabilitet

Oppbevar diaminobenzidin- og glutaraldehydløsningen i kjøleskap (2–8 °C). Reagensetiketter har utløpsdato. Oppbevar andre kitreagenser i romtemperatur (18–26 °C). Beskytt hematoksylinløsningen mot lys. Utløpsdato er angitt på reagensetikettene for kobbernitrat og Gill-modifisert EA-løsning.

Oppbevar kobbernitratløsning og Scotts arbeidsløsning til kravnanserstatning i romtemperatur (18–26 °C). Oppbevar TRIZMA®-arbeidsløsningen i kjøleskap (2–8 °C). Hvis det utvikles uklarhet, kaster du kobbernitratløsning, TRIZMA®-bufferkonsentrat og arbeidsløsning, Scotts konsentrat til kravnanserstatning og arbeidsløsning.

Oppbevar glutaraldehyd-acetonfikseringsmiddel tett lukket i kjøleskap (2–8 °C). Stabil forutsatt at pH er i området 7,2 til 8,0.

Forringelse

Kast hematoksylinløsning, Gill-nr. 3, hvis løsningen blir brun (luftoksidasjon) eller lilla (tap av surhet).

Fremstilling

Kobbernitratløsning fremstilles ved å løse opp innholdet i 1 hetteglass med kobbernitrat i 250 ml avionisert vann.

TRIZMA®-arbeidsløsning (pH 7,6 ± 0,3) fremstilles ved å fortynne 1 volum av TRIZMA®-bufferkonsentrat med 9 volum avionisert vann.

Glutaraldehyd-aceton-fikseringsløsning fremstilles ved å tilsette 25 ml aceton av reagenskvalitet i 75 ml glutaraldehydløsning.

Scotts konsentrat til kravnanserstatning-arbeidsløsning fremstilles ved å fortynne 1 volum Scotts konsentrat til kravnanserstatning med 9 volum avionisert vann.

Filtrer hematoksylinløsning, Gill-nr. 3, før 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**

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.

Benmargaspirat, perifert blod eller buffy coat-preparater kan brukes. Enten heparin eller EDTA fungerer som en tilfredsstillende antikoagulant.³ Ufikserte prøver kan oppbevares i romtemperatur (18–26 °C) beskyttet mot lys i flere måneder uten tap av aktivitet.⁴

Merk

Det anbefales at blodfilmer fremstilt fra friske donorer behandles sammen med pasientprøver for å overvåke systemytelsen.

Selv om myeloperoksidase generelt anses å være en markør for celler av myelocytisk cellelinje, er det viktig å gjenkjenne at monocytoide celler også kan utvise svak peroksidaseaktivitet.

Prosedyre

1. Løs opp innholdet i 1 hetteglass med diaminobenzidin i 50 ml TRIZMA®-arbeidsløsning.
2. Sett opp en serie fargebeholdere som inneholder følgende:
 - Glutaraldehyd-aceton-fikseringsløsning
 - Diaminobenzidinløsning fremstilt i trinn 1
 - Kobbernitratløsning
 - Hematoksylinløsning, Gill-nr. 3
 - Scotts arbeidsløsning til kravnanserstatning
 - Gill-modifisert EA-løsning
 - To skåler med 95 % etanol
 - To skåler med absolutt etanol
 - Tre skåler med xylen. Se MERK etter trinn 18
3. Umiddelbart før du fikserer objektglassene, tilsett 0,5 ml 1 % hydrogenperoksid i diaminobenzidinløsningen som ble fremstilt i trinn 1. Bland godt.
4. Fikser objektglassene ved 4–8 °C i glutaraldehyd-aceton-fikseringsløsning i 1 minutt.
5. Skyll raskt (30 sekunder) i avionisert vann.
6. Inkuber i 45 sekunder i diaminobenzidin/peroksidløsning fremstilt i trinn 3.
7. Skyll raskt (30 sekunder) i avionisert vann.
8. Senk i kobbernitratløsning i 2 minutter med forsiktig risting.
9. Skyll raskt (30 sekunder) i avionisert vann.
10. Senk ned i hematoksylinløsning, Gill-nr. 3 i 8 sekunder (4 dypp).
11. Skyll i 2 bytter av avionisert vann i 5 sekunder med risting.
12. Senk ned i 12 sekunder (6 dypp) i Scotts arbeidsløsning til kravnanserstatning.
13. Skyll i 2 bytter av avionisert vann i 5 sekunder.
14. Senk ned i Gill-modifisert EA-løsning i 1 minutt.
15. Skyll i 2 bytter med 95 % etanol i 3 sekunder hver.
16. Skyll i 2 bytter med absolutt etanol i 3 sekunder hver.
17. Skyll i 3 bytter med xylen i 3 sekunder hver.
18. Monter i permanent monteringsmedium og undersøk mikroskopisk. Fargen falmer hvis objektglassene ikke monteres.

Merk

Prosedyren kan forkortes ved å eliminere trinn 14–17. Eosinofilperoksidase vil se mørk rødbrun ut i stedet for rødoransje. Hvis Gill-modifisert EA-løsning brukes, må skylling i alkohol og xylen inkluderes.

Ytelsesegenskaper

Nøytrofiler og deres forløpere viser gråsvart intracellulær granulering. Monocytter farger mindre intenst. Eosinofiler farges rødoransje mens basofiler farges blå. Lymfocytter viser ikke peroksidaseaktivitet.

Blodfilmer fremstilt fra normale donorer ble farget for myeloperoksidase i henhold til denne prosedyren og ved bruk av en benzidinmetode.¹ Nøytrofiler viste brunsvart granulering med denne prosedyren og blå granulering med benzidinprosedyren. I begge tilfeller farget monocytter mindre intenst, og lymfocytter viste ikke myeloperoksidaseaktivitet.

Hvis observerte resultater avviker fra forventede resultater, kontakt teknisk service hos Sigma-Aldrich for å få hjelp.

Analytiske ytelsesegenskaper

De analytiske ytelseresultatene for de gitte testene utført på alle målstrukturer bekrefter 100 % følsomhet, spesifisitet og repeterbarhet.

Kat. nr.	Produktbeskrivelse	Mål	Spesifisitet innen analyse	Følsomhet innen analyse	Spesifisitet mellom analyser	Følsomhet mellom analyser
3911	Diaminobenzidin	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3912	Kobbernitrat	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3913	TRIZMA®-bufferkonsentrat	Osmolalitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		pH	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3802	Glutaraldehydløsning	Steder med aktivitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
GHS3	Hematoksylinløsning, Gill-nr. 3	Kjerner	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
3915	Gill-modifisert EA-løsning	Cytoplasma	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
S5134	Scotts konsentrat til kranvannserstatning	Osmolalitet	3 av 3	3 av 3	3 av 3	3 av 3
		pH	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.

391A:



- H225 Meget brannfarlig væske og damp.
- H272 Kan forsterke brann; oksiderende.
- H290 Kan være etsende for metaller.
- H302 + H312 + H332 Farlig ved svelging, hudkontakt eller innånding.
- H315 Irriterer huden.
- H317 Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
- H318 Gir alvorlig øyeskade.
- H334 Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding.
- H335 Kan forårsake irritasjon av luftveiene.
- H341 Mistenkes for å kunne forårsake genetiske skader.
- H350 Kan forårsake kreft.
- H360 Kan skade forplantningsevnen. Kan gi fosterskader.
- H370 Forårsaker organskader.
- H373 Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering.
- H410 Meget giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.
- P201 Innhent særskilt instruks før bruk.
- P210 Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.
- P220 Holdes borte fra klær og andre brennbare materialer.
- P260 Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
- P273 Unngå utslipp til miljøet.
- P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.

- P304 + P340 + P312 VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege ved ubehag.
- P305 + P351 + P338 + P310 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P308 + P311 Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER / en lege.
- P370 + P378 Ved brann: Bruk tørr sand, tørrkemikalier eller alkoholbestandig skum som slökkemiddel.

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

Symbolforklaring

Symboler som definert i EN ISO 15223-1:2021

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

Referanser

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Kontaktinformasjon

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

Revisjonshistorikk

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

Overførte til ny mal med gjeldende varemerke. Spesifiserte at utstyret er for profesjonell bruk, i tiltenkt bruk og forsiktighetsregler. Reviderte tiltenkt bruk for å overholde IVDR-retningslinjer. Oppdaterte materialsikkerhetsdatablad til sikkerhetsdatablad. Oppdaterte kontaktinformasjon. Fjernet instruksjon om å følge CLSI for prøvetaking. Fjernet EN 980 og endret til EN ISO 15223-1:2021 for symboler. La til kontaktinformasjon for bivirkninger. La til advarsler og farer. La til informasjon om CH-REP.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Kullanma Talimatı

Lökosit Peroksidaz (Miyeloperoksidaz) Kiti

Prosedür No. 391

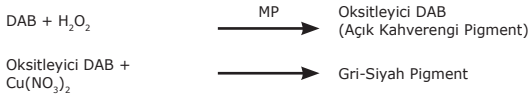


Kullanım Amacı

Sigma-Aldrich Peroksidaz (Miyeloperoksidaz) kiti, lökosit peroksidazın gösterimi için genel laboratuvar histokimyasal boyası olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Peroksidaz (Miyeloperoksidaz) kiti yalnızca profesyonel "In Vitro Tanı Amaçlı Kullanım" içindir. Bu manuel, kalitatif prosedür, insan numunelerinin kan veya kemik iliği filmlerinde polimorfonükleositleri tanımlar. Polimorfonükleositlerin histolojik olarak görselleştirilmesi ve tanımlanması, şu anda tıpta yaygın olarak kullanılan benzersiz bir tekniktir.

Peroksidaz (miyeloperoksidaz) sitokimyasının bir benzinin ikamesi olan diaminobenzidin (DAB), benzininden daha az tinktoriyal güce sahiptir.^{1,2} Bu, DAB'yi histokimyasal için çok daha az ilgi çekici hale getirmiştir. Bununla birlikte Hanker ve arkadaşları, DAB metodolojisini geliştirerek granülositleri, bunların öncülerini ve monositleri lenfoid kökenli hücrelerden ayırt etmek için daha uygun hale getirmiştir.³⁻⁶ Modifikasyonlarına göre, kahverengi reaksiyon ürünü önce bakır tuzları ile yoğunlaştırılır, Gill'in modifiye Papanicolaou boyası uygulanır, ardından nötrofil ve monosit miyeloperoksidaz bölgelerinde yoğun gri-siyah granüller oluşumu sonucu alınır.⁷

Sigma-Aldrich prosedürü Hanker tarafından geliştirilene benzer ve aşağıdaki reaksiyonları içerir:



Gill'in modifiye Papanicolaou boyası ile işlendiğinde, reaksiyon ürünü daha da yoğunlaşır ve nötrofillere, eozinofillere ve bazofillere karakteristik renk verilir. DAB'nin karsinogenitesini gösteren kanıtların şüpheli olduğu ve iyi laboratuvar uygulamasının herhangi bir potansiyel tehlikeyi ortadan kaldırması gerektiği unutulmamalıdır.⁸

Reaktifler

Diaminobenzidin (Kat. No. 3911-1VL)

Diaminobenzidin tetrahidroklorür, 25 mg/şişe (2 şişe). Tehlike. Yangını güçlendirebilir, oksitleyici. Yutulması halinde zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz hasarına neden olur. Sudaki yaşam için çok toksiktir.

Bakır Nitrat (Kat. No. 3912-1VL)

Bakır nitrat, 625 mg/şişe (2 şişe). Tehlike. Yangını güçlendirebilir, oksitleyici. Yutulması halinde zararlıdır. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz hasarına neden olur. Sudaki yaşam için çok toksiktir.

TRIZMA® Tampon Konsantresi (Kat. No. 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl tamponu, 1,0 mol/L. Uyarı. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur.

Glutaraldehit Çözeltisi (Kat. No. 3802-75ML)

Glutaraldehit, %4 ve borat tamponu, 67 mmol/L, pH 7,6. (2 x 75 mL)

Hematoksilen Çözeltisi, Gill No. 3 (Kat. No. GHS3-100ML)

Hematoksilen (sertifikalı) C.I. 75290, 6 g/L, sodyum iyodat, 0,6 g/L, alüminyum sülfat, 52,8 g/L ve stabilizatör.

Gill Modifiye EA Çözeltisi (Kat. No. 3915-100ML)

Hızlı Yeşil FCF (sertifikalı), C.I. 42053, %0,017 (a/h), Eosin Y (sertifikalı), C.I. 45380, %0,4 (a/h), alkol, %73 (h/h), mutlak metil alkol, %25 (h/h), buzlu asetik asit, %2 (h/h) ve fosfotungstik asit, %0,4 (a/h).

Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi (Kat. No. S5134-100ML)

Magnezyum sülfat içerir • 7H₂O, 200 g/L, sodyum bikarbonat, 20 g/L ve koruyucu.

Sağlanmayan Gerekli Özel Malzemeler

- Mutlak Etanol
- Etanol, %95
- Hidrojen Peroksit, %1
- Aseton, ACS Reaktifi
- Ksilen veya ksilen ikamesi

Saklama ve Stabilité

Diaminobenzidin ve Glutaraldehit Çözeltisini buzdolabında (2–8°C) saklayın. Reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi bulunur. Diğer kit reaktiflerini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. Hematoksilin Çözeltiyi ışıktan koruyun. Bakır Nitrat ve Gill Modifiye EA Çözeltisi için reaktif etiketlerinde son kullanma tarihi vardır.

Bakır Nitrat Çözeltisini ve Scott Musluk Suyu İkame Çalışma Çözeltisini oda sıcaklığında (18–26°C) saklayın. TRIZMA® Çalışma Çözeltisini buzdolabında (2–8°C) saklayın. Bulanıklık oluşursa Bakır Nitrat Çözeltisi, TRIZMA® Tampon Konsantresi ve Çalışma Çözeltisi, Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi ve Çalışma Çözeltisini atın.

Glutaraldehit-Aseton Fiksatif ağız sıkıca kapalı olarak buzdolabında (2–8°C) saklayın. pH 7,2 ila 8,0 aralığında olduğu sürece stabildir.

Bozulma

Çözelti kahverengiyi (hava oksidasyonu) veya mora (asitlik kaybı) dörerse Hematoksilin Çözelti, Gill No. 3'ü atın.

Hazırlama

Bakır Nitrat Çözeltisi, 1 şişe Bakır Nitrat içeriği 250 mL deiyonize suda çözülerek hazırlanır.

TRIZMA® Çalışma Çözeltisi (pH 7,6 ± 0,3), 1 ölçü TRIZMA® Tampon Konsantresini 9 ölçü deiyonize su ile seyrelterek hazırlanır.

Glutaraldehit-Aseton Fiksatif Çözeltisi, 75 mL Glutaraldehit Çözeltisine 25 mL reaktif dereceli aseton ilave edilerek hazırlanır.

Scott Musluk Suyu İkame Çalışma çözeltisi, 1 ölçü Scott Musluk Suyu İkame Konsantresini 9 ölçü deiyonize su ile seyrelterek hazırlanır.

Kullanmadan önce Hematoksilin Çözelti, Gill No. 3'ü filtreleyin.

Önlemler

Bu IVD'ler, klinik laboratuvar ortamında in vitro tanı amaçlı kullanıma yöneliktir. Bu IVD'ler yalnızca kalifiye personel tarafından profesyonel kullanım içindir. Sigma-Aldrich IVD'ler, bulaşıcı olabilen insan numunelerini işlemek, mikroskop ve diğer laboratuvar ekipmanlarını kullanmak üzere eğitilmiş, renkleri ve mikroskop altında diğer nesneleri ayırt etmek için renk algısına ve görme keskinliğine sahip laboratuvar personeli tarafından kullanılabilir.

Laboratuvar reaktiflerini kullanırken uygulanan normal önlemlere uyulmalıdır. Atıkları tüm yerel, eyalet, il veya ulusal seviyedeki yönetmeliklere uygun olarak atın.

Prosedür

Numune Toplama

Bilinen hiçbir test yöntemi, kan numunelerinin veya dokunun enfeksiyon bulaştırmayacağı tam olarak garanti edemez. Bu nedenle, tüm kan türevleri veya doku numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmelidir.

Kemik iliği aspiratı, periferik kan veya buffy coat preparatları kullanılabilir. Heparin veya EDTA, tatmin edici bir antikoagulan görevi görür.³ Fiksasyon uygulanmamış numuneler, aktivite kaybı olmaksızın oda sıcaklığında (18–26°C) ışıktan korunarak birkaç ay saklanabilir.⁴

Not

Sistem performans takibi olarak sağlıklı donörlerden hazırlanan kan filmlerinin hasta numuneleriyle birlikte işlenmesi önerilir.

Miyeloperoksidaz genellikle miyelositik soydan gelen hücreler için bir belirteç olarak kabul edilse de, monositoid hücrelerin de zayıf peroksidaz aktivitesi gösterebileceğini kabul etmek kaçınılmazdır.

Prosedür

1. Diaminobenzidin şişesinin içeriğini 50 mL TRIZMA® Çalışma Çözeltisinde çözün.
2. Aşağıdakileri içeren bir dizi boyama kavanozu hazırlayın:
 - Glutaraldehit-Aseton Fiksatif Çözeltisi
 - Adım 1'de hazırlanan Diaminobenzidin Çözeltisi
 - Bakır Nitrat Çözeltisi
 - Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3
 - Scott Musluk Suyu İkame Çalışma Çözeltisi
 - Gill Modifiye EA Çözeltisi
 - %95 etanol içeren iki kap
 - Mutlak etanol içeren iki kap
 - Ksilen içeren üç kap. Bkz. Adım 18'den sonraki NOT.
3. Lamlara fiksasyon uygulamadan hemen önce, Adım 1'de hazırlanan Diamino-benzidin çözeltisine 0,5 mL %1 hidrojen peroksit ekleyin. İyice karıştırın.
4. Lamlara 4–8°C'de Glutaraldehit-Aseton Fiksatif Çözeltisinde 1 dakika fiksasyon uygulayın.
5. Deiyonize suda kısa süre (30 saniye) durulayın.
6. Adım 3'te hazırlanan Diaminobenzidin/Peroksit çözeltisinde 45 saniye inkübe edin.
7. Deiyonize suda kısa süre (30 saniye) durulayın.
8. Hafifçe çalkalayarak Bakır Nitrat Çözeltisine 2 dakika daldırın.
9. Deiyonize suda kısa süre (30 saniye) durulayın.
10. Hematoksilin Çözeltisi, Gill No. 3'e 8 saniye daldırın (4 daldırma).
11. 2 kez deiyonize su ile 5 saniye çalkalayarak durulayın.
12. Scott Musluk Suyu İkame Çalışma Çözeltisine 12 saniye daldırın (6 daldırma).
13. 2 kez deiyonize suda 5 saniye durulayın.
14. Gill Modifiye EA Çözeltisine 1 dakika daldırın.
15. Her birini 3 saniye boyunca 2 kere değiştirerek %95 etanol ile durulayın.
16. Her birini 3 saniye boyunca 2 kere değiştirerek mutlak etanol ile durulayın.
17. Her birini 3 saniye boyunca 3 kere değiştirerek ksilen ile durulayın.
18. Kalıcı yerleştirme ortamına yerleştirin ve mikroskopik olarak inceleyin. Lamlar yerleştirilmezse renk solacaktır.

Not

Adım 14–17 arası atlanarak prosedür kısaltılabilir. Eozinofil peroksidaz kırmızı-turuncu yerine koyu kırmızı-kahverengi görünecektir. Gill Modifiye EA Çözeltisi kullanılıyorsa, alkol ve ksilen içinde durulama dahil edilmelidir.

Performans Özellikleri

Nötrofiller ve öncülleri gri-siyah hücre içi granülasyon gösterir. Monositler daha az yoğun boyanır. Eozinofiller kırmızı-turuncu boyanırken, bazofiller maviye boyanır. Lenfositler peroksidaz aktivitesi göstermezler.

Normal donörlerden hazırlanan kan filmleri, bu prosedüre göre ve bir benzinin yöntemine uygun olarak miyeloperoksidaz için boyanmıştır.¹ Nötrofiller bu prosedürle kahverengi-siyah granülasyon ve benzinin prosedürüyle mavi granülasyon göstermiştir. Her iki durumda da monositler daha az yoğun boyanmış ve lenfositler miyeloperoksidaz aktivitesi göstermemiştir.

Gözlemlenen sonuçlar beklenen sonuçlardan farklıysa, yardım için lütfen Sigma-Aldrich Teknik

Servisi ile iletişime geçin.

Analitik Performans Özellikleri

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

Kat. No.	Ürün Tanımı	Hedef	Tahlil İçi Özgüllük	Tahlil İçi Duyarlılık	Tahliiller Arası Özgüllük	Tahliiller Arası Duyarlılık
3911	Diaminobenzidin	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3912	Bakır Nitrat	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3913	TRIZMA® Tampon Konsantresi	Osmolalite	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		pH	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3802	Gluteraldehit Çözeltilisi	Aktivite Bölgeleri	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
GHS3	Hematoksilen Çözeltilisi, Gill No. 3	Çekirdekler	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
3915	Gill Modifiye EA Çözeltilisi	Sitoplazma	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
S5134	Scott Musluk Suyu İkame Konsantresi	Osmolalite	3'te 3	3'te 3	3'te 3	3'te 3
		pH	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.

391A:



H225 Son derece alevlenir sıvı ve buhar.

H272 Yangını güçlendirebilir; oksitleyici.

H290 Metaller için aşındırıcı olabilir.

H302 + H312 + H332 Yutulması, cilt ile teması veya solunması halinde zararlıdır.

H315 Cilt tahrişine neden olur.

H317 Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.

H318 Ciddi göz hasarına neden olur.

H334 Solunması halinde alerji veya astım semptomlarına ya da solunum güçlüğüne neden olabilir.

H335 Solunum tahrişine neden olabilir.

H341 Genetik kusurlara neden olabilir.

H350 Kansere neden olabilir.

H360 Üremeye zarar verebilir. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.

H370 Organlarda hasara yol açabilir.

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

H410 Sudaki yaşam için uzun süreli etkiyle çok toksiktir.

P201 Kullanmadan önce özel kullanma talimatlarını edin.

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

P220 Kıyafetlerden ve diğer yanıcı malzemelerden uzak tutun.

P260 Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayın.

P273 Çevreye salınmasını önleyin.

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

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

P305 + P351 + P338 + P310 GÖZLE TEMASı HALİNDE: Birkaç dakika suda dikkatlice durulayın. Varsa ve yapması kolaysa kontakt lensleri çıkarın. Durulamaya devam edin. Derhal bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNI/doktoru arayın.

P308 + P311 Maruz kalınması veya endişe edilen bir durum olması halinde: Bir ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNI/doktoru arayın.

P370 + P378 Yangın durumunda: Söndürme için kuru kum, kuru kimyevi madde veya alkole dayanıklı toz kullanın.

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

Sembol Tanımları

EN ISO 15223-1:2021'de tanımlanan semboller

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

Referanslar

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

İletişim Bilgileri

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

Revizyon Geçmişi

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

Mevcut markalama ile yeni şablona aktarıldı. Kullanım amacı ve önlemler bölümünde profesyonel kullanım amaçlı olduğu belirtildi. Kullanım amacı, IVDR yönergelerine uyumlu şekilde revize edildi. Malzeme Güvenlik Bilgi Formu, Güvenlik Bilgi Formu olarak güncellendi. İletişim bilgileri güncellendi. Numune toplama için CLSI'yi takip etme talimatı kaldırıldı. Semboller için EN 980 kaldırıldı ve EN ISO 15223-1:2021 olarak değiştirildi. Advers olay iletişim bilgileri eklendi. Uyarılar ve Tehlikeler eklendi. İsviçre'deki yetkili temsilci bilgileri eklendi.



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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany



MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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

Käyttöohje

Leukosyyttiperoksidaasi (myeloperoksidaasi) -pakkaus

Menetelmänro 391

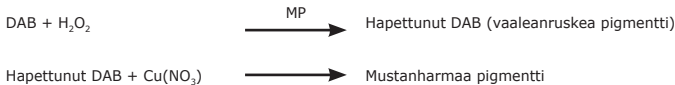


Käyttötarkoitus

Sigma-Aldrichin peroksidaasi (myeloperoksidaasi) -pakkaus on tarkoitettu käytettäväksi histokemiallisena väriaineena yleisessä laboratoriotyössä leukosyyttiperoksidaasin osoittamiseksi. Peroksidaasi (myeloperoksidaasi) -pakkaus on tarkoitettu vain ammattikäyttöön "in vitro -diagnostiikassa". Tällä manuaalisella, kvalitatiivisella menetelmällä tunnustetaan polymorfonukleaarista granulosityyttiä ihmisen veren tai luuytimen siveilyvalmisteista. Polymorfonukleaaristen granulosityyttiä histologinen visualisointi ja tunnistus on ainutlaatuinen tekniikka, joka on nykytietämyksessä yleisessä käytössä.

Diaminobentsidiinillä (DAB) on peroksidaasi (myeloperoksidaasi) -sytokemiassa bentsidiiniin korvikkeena vähemmän värjäysvoimaa kuin bentsidiinillä.^{1,2} Tästä johtuen histokemistit eivät näe DAB:ssä yhtä suurta arvoa. Hanker kumppaneineen paransi kuitenkin DAB-menetelmää ja teki siitä sopivamman granulosityyttiä, niiden esiasteiden ja monosyyttiä erottamiseen imukudosperäisistä soluista.³⁻⁶ Muunnelmassa ruskeaa reaktiotuotetta tehostetaan ensin kuparisuoloilla, minkä jälkeen käytetään Gillin modifioitua Papanicolaou-värystä. Näin saadaan voimakkaita mustanharmaita granuloita neutrofiilien ja monosyyttiä myeloperoksidaasialueille.⁷

Sigma-Aldrichin menetelmä muistuttaa Hankerin menetelmää, ja siihen liittyvät seuraavat reaktiot:



Kun käsittelyssä käytetään Gillin modifioitua Papanicolaou-värystä, reaktiotuote tehostuu entisestään ja ominainen väri välittyy neutrofiileihin, eosinofiileihin ja basofiileihin. On huomattava, että DAB:n karsinogeenisuuteen viittaavat todisteet ovat kyseenalaisia, ja hyvän laboratoriotyön pitäisi sulkea pois mahdolliset vaarat.⁸

Reagenssit

Diaminobentsidiini (luettelonro 3911-1VL)

Diaminobentsidiini-tetrahydrokloridi, 25 mg/pullo (10 pulloa). Vaara. Epäillään aiheuttavan perimävaurioita. Saattaa aiheuttaa syöpää. Lue erityisohjeet ennen käyttöä. Käytä henkilökohtaisia suojavarusteita tarpeen mukaan. Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Hakeudu lääkäriin.

Kuparinitraatti (luettelonro 3912-1VL)

Kuparinitraatti, 625 mg/pullo (2 pulloa). Vaara. Voi edistää tulipaloo; hapettava. Haitallista nieltynä. Ärsyttää ihoa. Voimakkaasti silmiä vaurioittavaa. Erittäin myrkyllistä vesiliöille.

TRIZMA®-puskurikonsentraatti (luettelonro 3913-50ML)

TRIZMA®-HCl-puskuri, 1,0 mol/l. Varoitus. Ärsyttää ihoa. Ärsyttää voimakkaasti silmiä.

Glutaarialdehydiliuos (luettelonro 3802-75ML)

Glutaarialdehydi, 4 %, ja boraattipuskuri, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 x 75 ml)

Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3 (luettelonro GHS3-100ML)

Hematoksyliini (sertifioitu), väri-indeksi 75290, 6 g/l, natriumjodaatti, 0,6 g/l, alumiinisulfaatti, 52,8 g/l, ja stabilointiaine.

Gillin modifioitu EA-liuos (luettelonro 3915-100ML)

Nopea vihreä FCF (sertifioitu), väri-indeksi 42053, 0,017 % (w/v), eosini Y (sertifioitu), väri-indeksi 45380, 0,4 % (w/v), alkoholi, 73 % (v/v), absoluuttinen metyylialkoholi, 25 % (v/v), jätetikka, 2 % (v/v), ja fosfovolframiinihappo, 0,4 % (w/v).

Scottin vesijohtovedenkorvikkeen konsentraatti (luettelonro S5134-100ML)

Sisältää magnesiumsulfaattia • 7H₂O, 200 g/l, natriumbikarbonaatti, 20 g/l, ja säilöntäaine

Tarvittavat erityismateriaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

- Absoluuttinen etanoli
- Etanoli, 95 %
- Vetyperoksidi, 1 %
- Asetoni, ACS-reagenssi
- Ksyleeni tai ksyleeninkorvike

Säilytys ja stabiilius

Säilytä diaminobentsidiiniä ja glutaarialdehydiliuos jääkaapissa (2–8 °C). Viimeinen käyttöpäivä on merkitty reagenssien etiketteihin. Säilytä muita pakkauksen reagensseja huoneenlämmössä (18–26 °C). Suojaa hematoksyliiniliuos valolta. Kuparinitraatin ja Gillin modifioitua EA-liuoksen etiketteihin on merkitty viimeinen käyttöpäivä.

Säilytä kuparinitraattiliuos ja Scottin vesijohtovedenkorvikkeen työskentelyliuos huoneenlämmössä (18–26 °C). Säilytä TRIZMA®-työskentelyliuos jääkaapissa (2–8 °C). Hävitä kuparinitraattiliuos, TRIZMA®-puskurikonsentraatti ja -työskentelyliuos sekä Scottin vesijohtovedenkorvikkeen konsentraatti ja työskentelyliuos, jos ne samenevat.

Säilytä glutaarialdehydi-asetonifikaatiiväriä tiiviisti suljettuna jääkaapissa (2–8 °C). Stabiili pH:n ollessa välillä 7,2–8,0.

Pilaantuminen

Hävitä hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, jos liuos muuttuu ruskeaksi (hapettuminen ilman vaikutuksesta) tai violetiksi (happamuuden häviäminen).

Valmistelu

Kuparinitraattiliuos valmistetaan liuottamalla yhden kuparinitraattipullon sisältö 250 ml:aan deionisoitua vettä.

TRIZMA®-työskentelyliuos (pH 7,6 ±0,3) valmistetaan laimentamalla yksi tilavuusosa TRIZMA®-puskurikonsentraattia yhdeksällä tilavuusosalla deionisoitua vettä.

Glutaarialdehydi-asetonifikaatiiväriä valmistetaan lisäämällä 25 ml reagenssilaatusta asetonia 75 ml:aan glutaarialdehydiliuosta.

Scottin vesijohtovedenkorvikkeen työskentelyliuos valmistetaan laimentamalla yksi tilavuusosa Scottin vesijohtovedenkorvikkeen konsentraattia yhdeksällä tilavuusosalla deionisoitua vettä.

Suodata hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3, ennen käyttöä.

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 ihmisnäytteitä käyttämään mikroskooppia ja muita laboratoriotarvikkeita ja jolla on riittävä värinäkö ja näöntarkkuus värien ja muiden kohteiden erottamiseen mikroskooppilla.

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

Menettely

Näytteenotto

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

Luuydiaspiraattia, perifeeristä verta tai buffy coat -valmisteita voidaan käyttää. Antikoagulanttina voidaan käyttää joko EDTA:ta tai hepariinia.³ Kiinnittämättömiä näytteitä voidaan säilyttää huoneenlämmössä (18–26 °C) valolta suojattuna useita kuukausia ilman, että toiminta häviää.⁴

Huomautus

On suositeltavaa, että potilasnäytteiden rinnalla käsitellään terveiltä luovuttajilta otetun veren siveilyvalmisteita järjestelmän suorituskyvyn valvomiseksi.

Vaikka myeloperoksidaasia pidetään yleisesti myelosyyttisen linjan solujen markkerina, on huomattava, että monosyyttiä muistuttavilla soluilla voi myös ilmetä heikkoa peroksidaasitoimintaa.

Menettely

- Liuota yhden diaminobentsidiinipullon sisältö 50 ml:aan TRIZMA®-työskentelyliuosta.
- Kokoa sarja värjäysastioita, joissa on seuraava sisältö:
 - glutaarialdehydi-asetonifikaatiiväri
 - diaminobentsidiiniliuos, valmistettu vaiheessa 1
 - kuparinitraattiliuos
 - hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3
 - Scottin vesijohtovedenkorvikkeen työskentelyliuos
 - Gillin modifioitu EA-liuos
 - kaksi maljaa, joissa on 95-prosenttista etanolia
 - kaksi maljaa, joissa on absoluuttista etanolia
 - kolme maljaa, joissa on ksyleeniä. Katso vaiheen 18 jälkeinen HUOMAUTUS.
- Lisää 0,5 ml 1-prosenttista vetyperoksidia vaiheessa 1 valmistettuun diaminobentsidiiniliuokseen juuri ennen objektilasian kiinnittämistä. Sekoita hyvin.
- Kiinnitä objektilaseja 4–8 °C:n lämpötilassa glutaarialdehydi-asetonifikaatiivärihuokseen yhden minuutin ajan.
- Huuhtelee lyhyesti (30 sekuntia) deionisoidussa vedessä.
- Inkuboi 45 sekunnin ajan diaminobentsidiini-peroksidiliuoksessa, joka valmistettiin vaiheessa 3.
- Huuhtelee lyhyesti (30 sekuntia) deionisoidussa vedessä.
- Uputa kuparinitraattiliuokseen kahden minuutin ajaksi ja ravista varovasti.
- Huuhtelee lyhyesti (30 sekuntia) deionisoidussa vedessä.
- Uputa hematoksyliiniliuokseen, Gillin nro 3, kahdeksan sekunnin ajan (neljä kastoa).
- Huuhtelee kahdessa erässä deionisoitua vettä viiden sekunnin ajan ja ravista samalla.
- Uputa 12 sekunnin ajan (kuusi kastoa) Scottin vesijohtovedenkorvikkeen työskentelyliuokseen.
- Huuhtelee kahdessa erässä deionisoitua vettä viiden sekunnin ajan.
- Uputa Gillin modifioitua EA-liuokseen yhdeksi minuutiksi.
- Huuhtelee kahdessa erässä 95-prosenttista etanolia, kolmen sekunnin ajan kummassakin.
- Huuhtelee kahdessa erässä absoluuttista etanolia, kolmen sekunnin ajan kummassakin.
- Huuhtelee kolmessa erässä ksyleeniä, kolmen sekunnin ajan jokaisessa astiassa.
- Preparoi pysyvään petausaineeseen ja tutki mikroskooppisesti. Objektilasian väri haalistuu ilman petausainetta.

Huomautus

Menettelyä voidaan lyhentää poistamalla vaiheet 14–17. Eosinofiiliperoksidaasi näkyy tummanpunaisen tai ruskean sävyisenä punaoranssin sijasta. Jos käytetään Gillin modifioitua EA-liuosta, huuhtelu alkoholilla ja ksyleenillä on sisällytettävä vaiheisiin.

Suorituskykyominaisuudet

Neutrofiilit ja niiden esiasteet ilmenevät mustanharmaana solunsisäisenä granulaationa. Monosyytit värjytyvät vähemmän voimakkaasti. Eosinofiilit värjytyvät punaoransseiksi ja basofiilit sinisiksi. Lymfositit eivät osoita peroksidaasitoimintaa.

Normaaleita luovuttajilta otetun veren siveilyvalmisteet värjätään myeloperoksidaasia varten tämän menetelmän ja bentsidiinimenetelmän mukaisesti.¹ Neutrofiileissa ilmeni mustanruskeaa granulaatiota tällä menetelmällä ja sinistä granulaatiota bentsidiinimenetelmällä. Molemmissa tapauksissa monosyytit värjäytyivät vähemmän voimakkaasti, ja lymfositit eivät osoittaneet myeloperoksidaasitoimintaa.

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

Analyttiset suorituskykyominaisuudet

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

Luettelonro	Tuotteen kuvaus	Kohde	Määrittymisen sisäisen spesifisyys	Määrittymisen sisäinen herkkyys	Määrittymisen välinen spesifisyys	Määrittymisen välinen herkkyys
3911	Diaminobentsidiini	Toiminta- alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3912	Kuparinitraatti	Toiminta- alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
3913	TRIZMA®- puskurikonsentraatti	Osmolaliteetti	3/3	3/3	3/3	3/3
		pH	3/3	3/3	3/3	3/3
3802	Glutaarialdehydiliuos	Toiminta- alueet	3/3	3/3	3/3	3/3
GHS3	Hematoksyliiniliuos, Gillin nro 3	Tumat	3/3	3/3	3/3	3/3
3915	Gillin modifioitu EA-liuos	Sytoplasma	3/3	3/3	3/3	3/3
S5134	Scottin vesijohtoveden- korvikkeen konsentraatti	Osmolaliteetti	3/3	3/3	3/3	3/3
		pH	3/3	3/3	3/3	3/3

Varoitukset ja vaarat

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

391A:



H225 Helposti syttyvä neste ja höyry.

H272 Voi edistää tulipaloa; hapettava.

H290 Voi syövyttää metalleja.

H302 + H312 + H332 Haitallista nieltynä, joutuessaan iholle tai hengitettynä.

H315 Ärsyttää ihoa.

H317 Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion.

H318 Voimakkaasti silmiä vaurioittavaa.

H334 Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia.

H335 Saattaa aiheuttaa hengitysteiden ärsytystä.

H341 Epäillään aiheuttavan perimävaurioita.

H350 Saattaa aiheuttaa syöpää.

H360 Saattaa heikentää hedelmällisyyttä. Saattaa vaurioittaa sikiötä.

H370 Vahingoittaa elimiä.

H373 Saattaa vahingoittaa elimiä nieltynä pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa.

H410 Erittäin myrkyllistä vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

P201 Lue erityisohjeet ennen käyttöä.

P210 Suojaa lämmöltä, kuumilta pinnoilta, kipinöiltä, avotulelta ja muilta sytytyslähteiltä. Tupakointi kielletty.

P220 Pidä erillään vaateuksesta ja muista syttyvistä materiaaleista.

P260 Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta.

P273 Vältettävä päästämistä ympäristöön.

P280 Käytä suojakäsineitä/suojavaateetusta/silmien suojausta/kasvosuojainta.

P304 + P340 + P312 JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia.

P305 + P351 + P338 + P310 JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

P308 + P311 Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN/lääkäriin.

P370 + P378 Tulipalon sattuessa: Käytä palon sammuttamiseen kuivaa hiekkaa, sammutusjauhetta tai alkoholinkestävää vaahtoa.

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

Symbolien selitykset

Symbolit standardin EN ISO 15223-1:2021 mukaisesti

	Valmistaja		Luettelonumero
	Katso käyttöohje		Eräkoodi
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa		Vaatumustenmukaisuusvakuutus Euroopan unionin määräysten mukaisesti (IVDR-asetus 2017/746)
	Viimeinen käyttöpäivä		In vitro -diagnoosiin tarkoitettu lääkinnällinen laite
	Lämpötilarajoitus		Huomio
	Valmistuspäivä		Maahantuoja
	Valtuutettu edustaja Sveitsissä		

Lähteet

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Yhteystiedot

Voit tehdä tilauksen verkkosivuiltamme osoitteessa [SigmaAldrich.com](https://www.sigmaaldrich.com). Tekniseen palveluumme voi ottaa yhteyttä teknisen palvelun sivulla osoitteessa [SigmaAldrich.com/techservice](https://www.sigmaaldrich.com/techservice).

Versiohistoria

Versio 3.0	2014
Versio 4.0	2016
Versio 5.0	2023

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

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

Gebruiksaanwijzing

Leukocytoperoxidase (myeloperoxidase)-kit

Procedurenr. 391



Beoogd gebruik

Peroxidase (myeloperoxidase)-kit van Sigma-Aldrich is bedoeld voor gebruik als een algemene histochemische laboratoriumkleuring voor het aantonen van leukocytoperoxidase. De peroxidase (myeloperoxidase)-kit is uitsluitend bedoeld voor professioneel 'in-vitrodiagnostisch gebruik'. Deze handmatige, kwalitatieve procedure identificeert polymorfonucleocyten in bloed- of beenmergfilms van humane monsters. Histologische visualisatie en identificatie van polymorfonucleocyten is een unieke techniek die momenteel veel gebruikt wordt in de geneeskunde.

Diaminobenzidine (DAB), als benzidinesubstituut voor cytochemie met peroxidase (myeloperoxidase), heeft minder kleurkracht dan benzidine.^{1,2} Dit maakte DAB veel minder aantrekkelijk voor histochemici. Hanker en zijn collega's verbeterden echter de DAB-methodologie, waardoor deze beter geschikt werd voor het differentiëren van granulocyten, hun precursors en monocyten van cellen van lymfoïde oorsprong.³⁻⁶ Volgens hun modificatie wordt het bruine reactieproduct eerst geïntensiveerd met koperzouten, gevolgd door het aanbrengen van Gill's gemodificeerde Papanicolaou-kleuring, wat resulteert in intens grijszwarte granula op plaatsen waar neutrofielen en monocyten myeloperoxidase produceren.⁷

De Sigma-Aldrich-procedure is vergelijkbaar met die van Hanker en omvat de volgende reacties:



Bij behandeling met Gill's gemodificeerde Papanicolaou-kleuring wordt het reactieproduct verder geïntensiveerd en krijgen neutrofielen, eosinofielen en basofielen een karakteristieke kleur. Er moet worden opgemerkt dat het bewijs voor de carcinogeniciteit van DAB niet eenduidig is en dat goede laboratoriumpraktijken elk potentieel gevaar zouden moeten uitsluiten.⁸

Reagentia

Diaminobenzidine (cat. nr. 3911-1VL)

Diaminobenzidine-tetrahydrochloride, 25 mg/flacon (10 flacons). Gevaar. Verdacht van het veroorzaken van genetische schade. Kan kanker veroorzaken. Alvorens te gebruiken, de speciale aanwijzingen raadplegen. Gebruik persoonlijke beschermingsmiddelen zoals vereist. Bij blootstelling of ongerustheid: Vraag medisch advies/medische hulp.

Kopernitraat (cat. nr. 3912-1VL)

Kopernitraat, 625 mg/flacon (2 flacons). Gevaar. Kan brand bevorderen; oxiderend. Schadelijk bij inslikken. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstig oogletsel. Zeer giftig voor in het water levende organismen.

TRIZMA®-bufferconcentraat (Cat. nr. 3913-50ML)

TRIZMA® HCl-buffer, 1,0 mol/L. Waarschuwing. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie.

Glutaaraldehyde-oplossing (cat. nr. 3802-75ML)

Glutaaraldehyde, 4%, en boraatbuffer, 67 mmol/L, pH 7,6. (2 x 75 mL)

Hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3 (cat. nr. GHS3-100ML)

Hematoxyline (gecertificeerd), C.I. 75290, 6 g/L, natriumjodaat, 0,6 g/L, aluminiumsulfaat, 52,8 g/L en stabilisator.

Gill gewijzigde EA-oplossing (cat. nr. 3915-100ML)

Fast Green FCF (gecertificeerd), C.I. 42053, 0,017% (w/w), eosine Y (gecertificeerd), C.I. 45380, 0,4% (w/w), alcohol, 73%, absolute methanol, 25% (w/w), ijsazijn, 2% (v/v) en fosforwolframzuur, 0,4% (w/w).

Scott's kraanwatervervangingsconcentraat (cat. nr. S5134-100ML)

Bevat magnesiumsulfaat • 7H₂O, 200 g/L, natriumcarbonaat, 20 g/L, en conserveermiddel

Vereiste, maar niet meegeleverde speciale materialen

- Absolute ethanol
- Ethanol, 95%
- Waterstofperoxide, 1%
- Aceton, ACS-reagens
- Xyleen of xyleenvervanger

Opslag en stabiliteit

Bewaar de diaminobenzidine en glutaaraldehyde-oplossing in de koelkast (2-8 °C). Op de etiketten van de reagentia staat de vervaldatum. Bewaar andere kitreagentia bij kamertemperatuur (18-26 °C). Bescherm hematoxyline-oplossing tegen licht. Op de reagensetiketten voor kopernitraat en Gill gewijzigde EA-oplossing staat de uiterste gebruiksdatum.

Bewaar kopernitraatoplossing en Scott's kraanwatervervangende werkoplossing bij kamertemperatuur (18-26 °C). Bewaar TRIZMA®-werkoplossing in de koelkast (2-8 °C). Als er troebelheid ontstaat, gooi dan de kopernitraatoplossing, TRIZMA®-bufferconcentraat en werkoplossing, Scott's kraanwatervervangingsconcentraat en werkoplossing weg.

Bewaar glutaaraldehyde-acetonfixatief goed afgesloten in de koelkast (2-8 °C). Stabiel mits pH tussen 7,2 en 8,0 ligt.

Verslechtering

Gooi hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3, weg als de oplossing bruin (oxidatie aan de lucht) of paars (verlies van zuurgraad) wordt.

Voorbereiding

Kopernitraatoplossing wordt bereid door de inhoud van 1 flacon kopernitraat op te lossen in 250 mL gede-ioniseerd water.

TRIZMA®-werkoplossing (pH 7,6 ± 0,3) wordt bereid door 1 deel TRIZMA®-bufferconcentraat te mengen met 9 delen gede-ioniseerd water.

De glutaaraldehydeaceton-fixatieoplossing wordt bereid door 25 mL aceton van reagentkwaliteit toe te voegen aan 75 mL glutaaraldehyde-oplossing.

Scott's kraanwatervervangende werkoplossing wordt bereid door 1 deel Scott's kraanwatervervangingsconcentraat te verdunnen met 9 delen gede-ioniseerd water.

Filtreer de hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3, vóór gebruik.

Voorzorgsmaatregelen

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

De normale voorzorgsmaatregelen bij het hanteren van laboratoriumreagentia moeten worden opgevolgd. Voer afval af met inachtneming van alle plaatselijke, provinciale of nationale voorschriften.

Procedure

Monsterafname

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

Er kunnen beenmergaspiraten, perifeer bloed of buffy coat-preparaten worden gebruikt. Heparine of EDTA kan worden gebruikt als een bevredigend antistollingsmiddel.³ Niet-gefixeerde monsters kunnen enkele maanden bij kamertemperatuur (18-26 °C) en afgeschermd van licht worden bewaard zonder verlies van activiteit.⁴

Opmerking

Het wordt aanbevolen om bloedfilms van gezonde donors samen met patiëntenmonsters te verwerken om de prestaties van het systeem te controleren.

Hoewel myeloperoxidase over het algemeen wordt beschouwd als een marker voor cellen van myelocytaire afstamming, is het essentieel om te weten dat monocytoïde cellen ook een zwakke peroxidaseactiviteit kunnen vertonen.

Procedure

1. Los de inhoud van 1 diaminobenzidineflacon op in 50 mL TRIZMA®-werkoplossing.
2. Zet een reeks kleurpotjes op die het volgende bevatten:
 - Glutaaraldehydeaceton-fixeeroplossing
 - Diaminobenzidine-oplossing bereid in stap 1
 - Kopernitraat-oplossing
 - Hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3.
 - Scott's kraanwatervervangende werkoplossing
 - Gill gewijzigde EA-oplossing
 - Twee schaaltes met 95% ethanol
 - Twee schaaltes met absolute ethanol
 - Drie schaaltes met xyleen. Zie OPMERKING na stap 18
3. Voeg vlak voor het fixeren van de objectglaasjes 0,5 mL 1% waterstofperoxide toe aan de in stap 1 bereide diaminobenzidine-oplossing. Goed mengen.
4. Fixeer de objectglaasjes bij 4-8 °C gedurende 1 minuut in glutaaraldehydeaceton-fixeeroplossing.
5. Spoel kort (30 seconden) in gede-ioniseerd water.
6. Incubeer 45 seconden in diaminobenzidine-peroxide-oplossing, bereid in stap 3.
7. Spoel kort (30 seconden) in gede-ioniseerd water.
8. Dompel onder in een kopernitraatoplossing gedurende 2 minuten en beweeg zachtjes.
9. Spoel kort (30 seconden) in gede-ioniseerd water.
10. Dompel onder in hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3 gedurende 8 seconden (4 dips).
11. Spoel 5 seconden met bewegen in 2 baden gede-ioniseerd water.
12. Dompel 12 seconden (6 dips) onder Scott's kraanwatervervangende werkoplossing
13. Spoel 5 seconden in 2 baden gede-ioniseerd water.
14. Dompel gedurende 1 minuut onder in Gill gewijzigde EA-oplossing.
15. Spoel in 2 baden 95% ethanol gedurende telkens 3 seconden.
16. Spoel in 2 baden absolute ethanol gedurende telkens 3 seconden.
17. Spoel in 3 baden xyleen gedurende telkens 3 seconden.
18. Inbedden in permanente inbedmiddelen en beoordeel microscopisch. De kleur zal vervagen als de glasjes niet ingebed zijn.

Opmerking

De procedure kan worden verkort door stappen 14-17 te schrappen. Eosinofielperoxidase verschijnt donker roodbruin in plaats van rood-oranje. Als Gill gewijzigde EA-oplossing wordt gebruikt, moet er worden gespoeld met alcohol en xyleen.

Prestatiekenmerken

Neutrofielen en hun precursors vertonen grijszwarte intracellulaire granulaties. Monocyten kleuren minder intens. Eosinofielen kleuren rood-oranje terwijl basofielen blauw kleuren. Lymfocyten vertonen geen peroxidaseactiviteit.

Bloedfilms van normale donors werden gekleurd voor myeloperoxidase volgens deze procedure en met een benzidinemethode.¹ Neutrofielen vertoonden met deze procedure bruinzwarte granulaties en met de benzidineprocedure blauwe granulaties. In beide gevallen kleurden monocyten minder intens en vertoonden lymfocyten geen myeloperoxidaseactiviteit.

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
3911	Diaminobenzidine	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3912	Kopernitraat	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3913	TRIZMA®-bufferconcentraat	Osmolaliteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		pH	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3802	Glutaaraldehyde-oplossing	Locaties van activiteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
GHS3	Hematoxyline-oplossing, Gill nr. 3	Kernen	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
3915	Gill gewijzigde EA-oplossing	Cytoplasma	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
S5134	Scott's kraanwa-tervervangingsconcentraat	Osmolaliteit	3 van 3	3 van 3	3 van 3	3 van 3
		pH	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.

391A:



- H225 Licht ontvlambare vloeistof en damp.
- H272 Kan brand bevorderen; oxiderend.
- H290 Kan bijtend zijn voor metalen.
- H302 + H312 + H332 Schadelijk bij contact met de huid of bij inademing.
- H315 Veroorzaakt huidirritatie.
- H317 Kan een allergische huidreactie veroorzaken.
- H318 Veroorzaakt ernstig oogletsel.
- H334 Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken.
- H335 Kan irritatie van de luchtwegen veroorzaken.
- H341 Verdacht van het veroorzaken van genetische schade.
- H350 Kan kanker veroorzaken.
- H360 Kan de vruchtbaarheid schaden. Kan het ongeboren kind schaden.
- H370 Veroorzaakt schade aan organen.
- H373 Kan bij inslikken schade aan organen veroorzaken bij langdurige of herhaalde blootstelling.
- H410 Zeer giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.
- P201 Alvorens te gebruiken, de speciale aanwijzingen raadplegen.
- P210 Verwijderd houden van warmte, hete oppervlakken, vonken, open vuur en andere ontstekingsbronnen. Verboden te roken.
- P220 Van kleding en andere brandbare materialen verwijderd houden.
- P260 Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen.
- P273 Voorkom lozing in het milieu.
- P280 Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.
- P304 + P340 + P312 NA INADEMING: Breng de persoon in de frisse lucht en zorg dat hij comfortabel kan ademen. Bel een ANTIGIFCENTRUM/arts als u zich onwel voelt.
- P305 + P351 + P338 + 310 BIJ CONTACT MET DE OGEN: Spoel zachtjes af met water gedurende enkele minuten. Contactlenzen verwijderen, indien aanwezig en gemakkelijk te doen. Blijven spelen. Bel onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P308 + P311 BIJ blootstelling of ongerustheid: Bel een ANTIGIFCENTRUM of een arts.
- P370 + P378 In geval van brand: Blussen met droog zand, droog chemisch product of alcoholbestendig schuim.

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

Symbooldefinities

Symbolen zoals gedefinieerd in EN ISO 15223-1:2021

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

Referenties

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histocytochemical and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Contactgegevens

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

Herzieningsgeschiedenis

Herz. 3.0	2014
Herz. 4.0	2016
Herz. 5.0	2023

Overgezet naar nieuwe sjabloon met huidige huisstijl. Gespecificeerd voor professioneel gebruik in bedoeld gebruik en voorzorgsmaatregelen. Herzien beoogd gebruik om aan te sluiten bij IVDR-richtlijnen. Veiligheidsinformatieblad bijgewerkt tot veiligheidsinformatieblad. Contactgegevens bijgewerkt. Instructie om CLSI te volgen voor monsterafname verwijderd. EN 980 verwijderd en gewijzigd in EN ISO 15223-1:2021 voor symbolen. Contactinformatie over melding ongewenste voorvallen toegevoegd. Waarschuwingen en gevaren toegevoegd. CH-REP informatie toegevoegd.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

Navodila za uporabo

Komplet za levkocitno peroksidazo (mieloperoksidazo)

Postopek št. 391



Predvidena uporaba

Komplet peroksidaze Sigma-Aldrich (mieloperoksidaza) je namenjen uporabi kot splošno laboratorijsko histokemično barvilo za dokazovanje levkocitne peroksidaze. Komplet za peroksidazo (mieloperoksidazo) je namenjen samo za profesionalno »diagnostično uporabo in vitro«. Ta ročni, kvalitativni postopek določa polimorfonukleocite v filmih krvi ali kostnega mozga človeških vzorcev. Histološka vizualizacija in identifikacija polimorfonukleocitov je edinstvena tehnika, ki se trenutno pogosto uporablja v medicini.

Diaminobenzidin (DAB) kot nadomestek benzidina za citokemijo s peroksidazo (mieloperoksidazo) ima manjšo tinktorsko moč kot benzinidin.^{1,2} Zaradi tega je DAB za histokemike veliko manj privlačen. Vendar so Hanker in sodelavci izboljšali metodologijo DAB in jo naredili primernejšo za razlikovanje granulocitov, njihovih prekurzorjev in monocitov od celic limfoidnega izvora.³⁻⁶ Po njihovi modifikaciji se rjavi reakcijski produkt najprej okrepi z bakrovimi solmi, nato se uporabi Gillovo modificirano barvilo Papanicolaou, kar povzroči intenzivne sivočrne granule na mestih mieloperoksidaze nevtrofilcev in monocitov.⁷

Postopek Sigma-Aldrich je podoben tistemu, ki ga je razvil Hanker, in vključuje naslednje reakcije:



Pri obdelavi z Gillovim modificiranim barvilom Papanicolaou se reakcijski produkt še okrepi, nevtrofilci, eozinofili in bazofili pa dobijo značilno barvo. Opozoriti je treba, da so dokazi o rakotvornosti DAB dvoumni, dobra laboratorijska praksa pa bi morala izključiti vsako morebitno nevarnost.⁸

Reagenti

Diaminobenzidin (kat. št. 3911-1VL)
Diaminobenzidin tetrahidroklorid, 25 mg/vialo (10 vial). Nevarno. Sum povzročitve genetskih okvar. Lahko povzroči raka. Pred uporabo pridobite posebna navodila. Po potrebi uporabljajte osebno zaščitno opremo. Če ste izpostavljeni ali zaskrbljeni: Poišcite zdravniško pomoč/oskrbo.

Bakrov nitrat (kat. št. 3912-1VL)

Bakrov nitrat, 625 mg/vialo (2 viali). Nevarno. Lahko okrepi požar; oksidativna snov. Zdravju škodljivo pri zaužitju. Povzroča draženje kože. Povzroča hude poškodbe oči. Zelo strupeno za vodne organizme.

Koncentrat pufru TRIZMA® (kat. št. 3913-50ML)
TRIZMA®-HCl pufer, 1,0 mol/l. Opozorilo. Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči.

Raztopina glutaraldehida (kat. št. 3802-75ML)
4-odstotni glutaraldehid in boratni pufer, 67 mmol/l, pH 7,6. (2 × 75 ml)

Raztopina hematoksilina, Gill št. 3 (kat. št. GHS3-100ML)
Hematoksinil (certificiran), C.I. 75290, 6 g/l, natrijev jodat, 0,6 g/l, aluminijev sulfat, 52,8 g/l, in stabilizator.

Gillova modificirana raztopina EA (kat. št. 3915-100ML)
Fast Green FCF (certificirano), C.I. 42053, 0,017 % (m/v), Eosin Y (certificirano), C.I. 45380, 0,4 % (m/v), alkohol, 73 % (vol%), absolutni metilni alkohol, 25 % (vol%), ledocetna kislina, 2 % (vol%), in fosfovolframova kislina, 0,4 % (m/v).

Scottov koncentrat nadomestka vode iz pipe (kat. št. S5134-100ML)
Vsebuje magnezijev sulfat • 7H₂O, 200 g/l, natrijev bikarbonat, 20 g/l, in konzervansi

Posebni materiali, ki so potrebni, vendar niso priloženi

- Absolutni etanol
- Etanol, 95 %
- Vodikov peroksid, 1 %
- Aceton, reagent ACS
- Ksilen ali nadomestek ksilena

Shranjevanje in stabilnost

Raztopino diaminobenzidina in glutaraldehida hranite v hladilniku (2–8 °C). Na oznakah reagentov je naveden datum izteka roka uporabnosti. Druge reagente iz kompleta shranjujte pri sobni temperaturi (18–26 °C). Raztopino hematoksilina zaščitite pred svetlobo. Na oznakah reagentov za bakrov nitrat in Gillovo modificirano raztopino EA je naveden datum izteka roka uporabnosti.

Raztopino bakrovega nitrata in delovno raztopino Scott's Tap Water Substitute Concentrate hranite pri sobni temperaturi (18–26 °C). Delovno raztopino TRIZMA® hranite v hladilniku (2–8 °C). Če se pojavi motnost, zavrzite raztopino bakrovega nitrata, koncentrat pufru TRIZMA® in delovno raztopino ter koncentrat in delovno raztopino Scottovega nadomestka vode iz pipe.

Glutaraldehydno-acetonski fiksativ hranite v hladilniku (2–8 °C). Stabilen, če je pH med 7,2 in 8,0.

Poslabšanje kakovosti

Če raztopina postane rjava (oksidacija na zraku) ali vijolična (izguba kislosti), raztopino hematoksilina, Gill št. 3, zavrzite.

Priprava

Raztopino bakrovega nitrata pripravite tako, da v 250 ml deionizirane vode raztopite vsebino 1 viala bakrovega nitrata.

Delovno raztopino TRIZMA® (pH 7,6 ± 0,3) pripravite z razredčenjem 1 volumna koncentriranega pufru TRIZMA® z 9 volumni deionizirane vode.

Glutaraldehydno-acetonsko fiksirno raztopino pripravimo tako, da 75 ml glutaraldehidne raztopine dodamo 25 ml acetona reagenčne kakovosti.

Delovna raztopina Scottovega nadomestka vode iz pipe se pripravi z razredčenjem 1 volumna koncentrata Scottovega nadomestka vode iz pipe z 9 volumni deionizirane vode.

Pred uporabo filtrirajte raztopino hematoksilina, Gill št. 3.

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 ima sposobnost zaznavanja barv in ostrino vida za razlikovanje barv in drugih predmetov pod mikroskopom.

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

Postopek

Zbiranje vzorcev

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

Uporabi se lahko aspirat kostnega mozga, periferna kri ali preparati buffy coat. Heparin ali EDTA sta zadovoljiva antikoagulantna.³ Nefiksirane vzorce lahko hranite pri sobni temperaturi (18–26 °C), zaščitene pred svetlobo, več mesecev brez izgube aktivnosti.⁴

Opomba

Priporočljivo je, da se krvni filmi, pridobljeni iz zdravih darovalcev, obdelujejo skupaj z vzorci bolnikov, da se spremlja delovanje sistema.

Čeprav mieloperoksidaza na splošno velja za označevalec celic mielocitne linije, se je treba zavedati, da imajo lahko tudi monocitoidne celice šibko peroksidazno aktivnost.

Postopek

- Vsebino 1 viala z diaminobenzidinom raztopite v 50 ml delovne raztopine TRIZMA®.
- Pripravite serijo kozarcev za barvanje, ki vsebujejo naslednje:
 - Glutaraldehydno-acetonska fiksirna raztopina
 - Raztopina diaminobenzidina, pripravljena v koraku 1
 - Raztopina bakrovega nitrata
 - Raztopina hematoksilina, Gill št. 3.
 - Delovna raztopina Scottovega nadomestka za vodo
 - Modificirana raztopina Gill EA
 - Dve posodi s 95-odstotnim etanolom
 - Dve posodi z absolutnim etanolom
 - Tri posode s ksilenom. Glejte OPOMBO, ki sledi 18. koraku.
- Neposredno pred fiksiranjem preparatov dodajte 0,5 ml 1-odstotnega vodikovega peroksida v raztopino diaminobenzidina, pripravljeno v koraku 1. Dobro premešajte.
- Stekelca 1 minuto fiksirajte pri 4–8 °C v glutaraldehydno-acetonski fiksacijski raztopini.
- Na kratko (30 sekund) sperite v deionizirani vodi.
- Inkubirajte 45 sekund v raztopini diaminobenzidina in peroksida, pripravljene v koraku 3.
- Na kratko (30 sekund) sperite v deionizirani vodi.
- Potopite v raztopino bakrovega nitrata za 2 minuti z rahlim mešanjem.
- Na kratko (30 sekund) sperite v deionizirani vodi.
- Potopite v raztopino hematoksilina, Gill št. 3, za 8 sekund (4 potopitve).
- Izpirajte v 2 izmenjavah deionizirane vode 5 sekund z mešanjem.
- Za 12 sekund (6 potopitev) potopite v delovno raztopino Scottovega nadomestka vode iz pipe.
- 5 sekund spirajte v 2 menjavah deionizirane vode.
- Za 1 minuto jih potopite v modificirano raztopino Gill EA.
- Izperite v 2 menjavah 95-odstotnega etanola po 3 sekunde.
- Izperite v 2 menjavah absolutnega etanola po 3 sekunde.
- Izperite v 3 menjavah ksilena po 3 sekunde.
- Pritrdite jih v trajno sredstvo za pritrdjevanje in jih mikroskopsko pregledajte. Barva bo zbledela, če stekelca ne bodo pritrjena.

Opomba

Postopek lahko skrajšate tako, da odpravite korake 14–17. Eozinofilna peroksidaza bo namesto rdeče-oranžne videti temno rdeče-rjava. Če se uporablja modificirana raztopina Gill EA, je treba vključiti izpiranje v alkoholu in ksilenu.

Značilnosti delovanja

Nevtrofilci in njihovi prekurzorji imajo sivo-črno znotrajcelično granulacijo. Monociti se obarvajo manj intenzivno. Eozinofili se obarvajo rdeče-oranžno, bazofili pa modro. Limfociti ne kažejo peroksidazne aktivnosti.

Krvne filme, pridobljene iz normalnih darovalcev, smo obarvali za mieloperoksidazo po tem postopku in po benzijski metodi.¹ Nevtrofilci so po tem postopku pokazali rjavo-črne granulacije, po benzijski metodi pa modre granulacije. V obeh primerih so se monociti obarvali manj intenzivno, limfociti pa niso pokazali mieloperoksidazne aktivnosti.

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
3911	Diaminobenzidin	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3912	Bakrov nitrat	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3913	Koncentrat pufra TRIZMA®	Osmolalnost	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		pH	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3802	Raztopina glutaraldehida	Lokacije aktivnosti	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
GHS3	Raztopina hematoksilina, Gill št. 3	Jedra	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
3915	Modificirana raztopina Gill EA	Citoplazma	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
S5134	Scottov koncentrat nadomestka vode iz pipe	Osmolalnost	3 od 3	3 od 3	3 od 3	3 od 3
		pH	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.

391A:



- H225 Lahko vnetljiva tekočina in hlapi.
- H272 Lahko okrepi požar; oksidativna snov.
- H290 Lahko je jedko za kovine.
- H302 + H312 + H332 Zdravju škodljivo pri zaužitju, stiku s kožo ali vdihavanju.
- H315 Povzroča draženje kože.
- H317 Lahko povzroči alergijski odziv kože.
- H318 Povzroča hude poškodbe oči.
- H334 Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju.
- H335 Lahko povzroči draženje dihalnih poti.
- H341 Sum povzročitve genetskih okvar.
- H350 Lahko povzroči raka.
- H360 Lahko škoduje plodnosti. Lahko škoduje nerojenemu otroku.
- H370 Škoduje organom.
- H373 Pri dolgotrajni ali ponavljajoči se izpostavljenosti lahko ob zaužitju povzroči poškodbe organov.
- H410 Zelo strupeno za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.
- P201 Pred uporabo pridobiti posebna navodila.
- P210 Hraniti ločeno od vročine, vročih površin, isker, odprtega ognja in drugih virov vžiga. Kajenje je prepovedano.
- P220 Hraniti ločeno od oblačil in drugih vnetljivih materialov.
- P260 Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila.
- P273 Preprečiti sproščanje v okolje.
- P280 Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščitno za oči/zaščitno za obraz.
- P304 + P340 + P312 PRI VDIHAVANJU: Prenesti osebo na svež zrak in jo pustiti v udobnem položaju, ki olajša dihanje. Ob slabem počutju pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P305 + P351 + P338 + P310 PRI STIKU Z OČMI: Previdno izpirati z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P308 + P311 PRI izpostavljenosti ali sumu izpostavljenosti: Pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE/zdravnika.
- P370 + P378 Ob požaru: Za gašenje se uporabi suh pesek, suho kemikalijo ali peno, odporno proti alkoholu.

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

Definicije simbolov

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

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

Reference

- Graham RC, Karnovsky MJ: Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. J Exp Med 124:1123, 1966
- Graham RC, Karnovsky MJ: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966
- Hanker JS, Laszlo J, Moore JO: The light microscopic demonstration of hydroperoxidase-positive phi bodies and rods in leukocytes in acute myeloid leukemia. Histochemistry 58:241, 1978
- Hanker JS, Ambrose WW, James CJ, et al: Facilitated light microscopic cytochemical diagnosis of acute myelogenous leukemia. Cancer Res 39:1635, 1979
- Hanker JS, Chandross RJ, Weatherly NF et al: Medusa cells: The morphology and cytochemistry of common amoeboid variants of eosinophils. Histochem J 12:701, 1980
- Hanker JS, Giammara BL: Haematology: Some Advances and Insights from Histochemistry and Molecular Biological Studies of Haemoproteins, IN Histochemistry: The Widening Horizons. P.J. Stoward and JM Polak, Editors, John Wiley & Sons Ltd., Sussex, 1991
- Gill GW, Frost JK, Miller KA: A new formula for a half-oxidized hematoxylin solution that neither overstains nor requires differentiation. Acta Cytol 18:300, 1974
- Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. IN Atlas of Blood Cells - Function and Pathology, Vol 1, D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Editors, Lea and Febiger, Philadelphia, 1981, pp 149-242

Kontaktni podatki

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

Zgodovina revizij

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

Preneseno v novo predlogo s trenutno blagovno znamko. Navedeno za poklicno uporabo v okviru predvidene uporabe in previdnostnih ukrepov. Revidiran je namen uporabe za uskladev s smernicami IVDR. Posodobljen je varnostni list materiala v varnostni list. Posodobljeni so kontaktni podatki. Odstranjeno je navodilo, da je treba pri zbiranju vzorcev upoštevati standard CLSI. Odstranjen je standard EN 980 in za simbole spremenjen v standard EN ISO 15223-1:2021. Dodani so kontaktni podatki v primeru neželenih dogodkov. Dodana so opozorila in nevarnosti. Dodane so bile informacije o zastopniku v Švici.

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

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany

Merck KGaA,
64271
Darmstadt,
Germany

MDSS CH GmbH
Laurenzenvorstadt 61
5000 Aarau
Switzerland

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

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

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