

## TILSIGTET ANVENDELSE

Sigma-Aldrichs leukocyt (myeloperoxidase) er beregnet til brug for histokemisk påvisning i leukocytperoxidase. Leukocytperoxidase reagenser er beregnet til in vitro diagnostisk anvendelse.

Klassiske metoder til cytokemisk lokalisering af myeloperoxidase (MP) har omfattet brugen af benzidin<sup>1</sup> eller diaminobenzidin.<sup>2</sup> I 1977 beskrev Hanker et al.<sup>3</sup> brugen af p-fenylendiamin og catechol til påvisning af injiceret peberrodspoxidase. Dette indikatorsystem er grundlaget for Sigma-Aldrichs procedure, når myeloperoxidase påvises ved hjælp af følgende reaktion:



## REAGENSER

**TRIZMAL™ 6,3 BUFFERKONCENTRAT**, katalognr. 90-3C

TRIZMA® maleat, 200 mmol/l. Kloroform tilsat som konserveringsmiddel.

**PEROXIDASEINDIKATORREAGENS**, katalognr. 390-1

p-fenylendiamin diHCl (1 del) og catechol (2 dele).

**SYREHEMATOXYLINOPPLØSNING**, katalognr. 285-2

Hematoxylin, certificeret, 1 g/l, pH 3,3 ved 25 °C.

### OPBEVARING OG STABILITET:

Trizmal™ 6,3 bufferkoncentrat og syrehematoxylinopløsning skal opbevares ved stuetemperatur (18–26 °C).

Peroxidaseindikatorreagens skal opbevares nedkølet (2–8 °C).

Syrehematoxylinopløsningen bør ikke hældes tilbage i den originale beholder efter brug i Coplin-glas.

Hydrogenperoxid, 3 % i fosfatbufferet saltvandsopløsning skal opbevares i køleskab (2–8 °C). Skal kasseres, hvis der udvikles uklarhed.

Reagenserne er stabile indtil udløbsdatoen.

### FORRINGELSE:

Trizmal™ 6,3 bufferkoncentrat skal kasseres, hvis der udvikles uklarhed.

Syrehematoxylinopløsning skal kasseres, når den nødvendige tid til en passende farvning overskrider den tid, som anbefales for proceduren, med mere end 5 minutter.

### KLARGØRING:

Trizmal™ 6,3 fortynderbuffer klargøres ved blanding af 1 del TRIZMAL™ 6,3 buffer koncentrat, katalognr. 90-3C, med 9 dele deioniseret vand. Til engangsbrug. Skal kasseres efter brug.

Ethanol 95 % (v/v) fiksativopløsning klargøres ved blanding af 5 ml 37 % formaldehyd med 45 ml 95 % ethanol. Lav en frisk opløsning hver dag. Opbevares tæt tillukket.

Hydrogenperoxid, 3 %, i fosfatbufferet saltvandsopløsning klargøres ved tilsætning af 1 del 30 % hydrogenperoxid til 9 dele fosfatbufferet saltvandsopløsning med pH 7,4. Opløsningen bør være frisklavet.

### FORHOLDSREGLER:

De normale forholdsregler ved håndtering af laboratoriereagenser skal følges. Ved kassering af affald skal alle lokale og nationale bestemmelser overholdes. Der henvises til materialesikkerhedsdatabladet for opdaterede oplysninger om risici, fare eller sikkerhed.

Amerikanske risiko- og sikkerhedserklæringer

Peroxidaseindikatorreagens er GIFTIGT. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan give allergi ved indånding og hudkontakt. Meget giftig for vandorganismer, kan medføre langsigtede skadevirkninger i vandmiljøet. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Dette materiale og dets beholder skal kasseres som farligt affald. Undgå udslip til omgivelserne. Se de særlige instruktions-/sikkerhedsdataark.

TRIZMAL™ bufferkoncentrat er SUNDHEDSFARLIGT og farligt for miljøet. Farlig ved indtagelse. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Farlig: alvorlig sundhedsfare ved længere tids påvirkning ved indånding og indtagelse. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

Syrehematoxylin er GIFTIGT. Giftig ved indtagelse. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Må kun bruges på steder med god ventilation.

Formaldehyd er GIFTIG. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Ætsningsfare. Kan give allergi ved indånding og hudkontakt. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan forårsage arvelige genetiske skader. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Må kun bruges på steder med god ventilation.

Ethanol er BRANDFARLIG og LOKALIRRITERENDE. Meget brandfarlig. Irriterer øjnene, åndedrætsorganerne og huden. Beholderen skal være tæt tillukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesbeklædning.

30 % hydrogenperoxid er OXIDERENDE og ÆTSENDE. Kontakt med brændbart materiale kan forårsage brand. Ætsningsfare. Holdes væk fra brændbart materiale. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

Risiko- og sikkerhedserklæringer for EU

Peroxidaseindikatorreagens er GIFTIGT og farligt for miljøet. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Irriterer øjne og hud. Kan give allergi ved hudkontakt. Meget giftig for vandorganismer, kan medføre langsigtede skadevirkninger i vandmiljøet. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt og -handsker. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Dette materiale og dets beholder skal kasseres som farligt affald. Undgå udslip til omgivelserne. Se de særlige instruktions-/sikkerhedsdatablade.

Syrehematoxylin er SUNDHEDSSKADELIG. Farlig ved indtagelse.

Formaldehyd er GIFTIG. Giftig ved indånding, ved hudkontakt og ved indtagelse. Ætsningsfare. Begrænset påviselig carcinogen virkning. Kan give allergi ved hudkontakt. I tilfælde af kontakt med øjnene skylles straks grundigt med masser af vand og lægehjælp søges. Bær passende beskyttelsesdragt, handsker og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt). Må kun bruges på steder med god ventilation.

Ethanol er MEGET BRÆNDBAR. Meget brandfarlig. Beholderen skal være tæt tillukket. Holdes væk fra antændelseskilder – rygning forbudt.

Hydrogenperoxid er ÆTSENDE. Ætsningsfare. Efter hudkontakt skal der omgående vaskes med rigelige mængder vand. Bær passende beskyttelsesdragt og øjen-/ansigtsbeskyttelse. Ved ulykkestilfælde eller ved ildebefindende søges omgående lægehjælp (vis etiketten hvis det er muligt).

## PROCEDURE

### PRØVEINDSAMLING:

Det anbefales, at prøveindsamling sker i henhold til NCCLS-dokumentet M29-A2. Der er ingen kendt testmetode, som kan give fuldstændig sikring af, at blodprøver eller væv ikke overfører infektion. Derfor skal alle blodderivater eller vævsprøver opfattes som potentielt infektiøse.

Der skal anvendes frisklavede fuldblods- eller knoglemarvsfilm til analysen. Blod kan indsamles i heparin eller EDTA. Bør udsættes mindst muligt for lys, da leukocytperoxidase er lysfølsom. Ufikserede film er rapporteret som værende stabile i 3 uger ved opbevaring i mørke.<sup>1</sup> Beskyt filmene mod lys, og lad dem lufttørre i 10 minutter før fikseringen.

### SÆRLIGE NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER:

Formaldehyd, 37 % opløsning

Ethanol, 95 % (v/v)

Fosfatbufferet saltvand, pH 7,4, katalognr. P 3813

Hydrogenperoxid, 30 %

### BEMÆRKNINGER:

Det anbefales, at der som kontrol af systemet behandles blodfilm forberedt fra sunde donorer sammen med patientprøver.

Selvom myeloperoxidase generelt anses som en markør for celler af myelocytisk afstamning, er det afgørende at anerkende, at monocytoide celler også kan udvise en svag peroxidaseaktivitet.

De data, som opnås via denne procedure, tjener kun som hjælp til diagnosticering og skal gennemses i forbindelse med andre kliniske diagnostiske tests eller oplysninger.

### PROCEDURE:

1. Fikser filmene ved stuetemperatur i 30 sekunder i **fikseringsopløsning**.
2. Vask objektglas i rindende vand i 2 minutter og lad dem lufttørre i mørke i 10 minutter.
3. **Forvarm 50 ml TRIZMAL™ 6,3 fortynderbuffer** i et 37 °C varmt vandbad.
4. Umiddelbart før brug tilsættes 1 hætteglas peroxidaseindikatorreagens, katalognr. 390-1 og 200 µl (0,2 ml) 3 % hydrogenperoxid til den forvarmede Trizmal™ 6,3 fortynderbuffer. Bland grundigt. Skal kasseres efter brug.
5. Anbring de vaskede, fikserede objektglas (trin 2) i peroxidaseindikatorreagensopløsningen (trin 4) i 30 minutter i mørke i et 37 °C grader varmt vandbad.
6. Efter inkubation vaskes objektglassene under rindende vand i 15-30 sekunder og lufttørres.
7. Objektglassene kontrastfarves med syrehematoxylinopløsning, katalognr. 285-2, i 10 minutter.
8. Skyl objektglassene i rindende deioniseret vand i 15-30 sekunder. Lad objektglassene lufttørre, og undersøg dem under mikroskop.

## RESULTATKARAKTERISTIKA

Blodfilm, som er klargjort med materiale fra normale donorer, blev farvet for myeloperoxidase i henhold til denne procedure og ved en benzidinmetode.<sup>1</sup> Neutrofiler udviste brunsort granulering med denne procedure og blå granulering med benzidinproceduren. I begge tilfælde fremviste monocytter mindre intens farvning og lymfocytter udviste ingen myeloperoxidaseaktivitet.

Hvis de observerede resultater afviger fra de forventede, skal Sigma-Aldrich Technical Service kontaktes for yderligere hjælp.

---

## HENVISNINGER

---

1. Kaplow SL: Simplified myeloperoxidase stain using benzidine dihydrochloride. Blood 26:215, 1965.
2. Graham RC, Karnovsky MJ: The early stage of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubule of mouse kidney; Ultrastructural cytochemistry by a new technique. J Histochem Cytochem 14:291, 1966.
3. Hanker JS, Yates PE, Metz CB, Rustioni A: A new specific sensitive and non-carcinogenic reagent for the demonstration of horseradish peroxidase. Histochem 9:789, 1977.
4. Bennett JM, Catovsky D, Daniel M, Randrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C: Proposals for the classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) Co-operative Group. Brit J Haematol 33:451, 1976.
5. Marmont AM, Damasio E, Zucker-Franklin D: Neutrophils. In Atlas of Blood Cells-Function and Pathology, Vol. 1. Edited by D Zucker-Franklin, MF Greaves, CE Grossi, AM Marmont, Lea and Febriger, Philadelphia, 1981, pp 149-424.

Sigma-Aldrich, Inc. garanterer, at dets produkter stemmer overens med de oplysninger, som er indeholdt i denne og andre publikationer fra Sigma-Aldrich. Det påhviler køber at fastlægge produktets/produkternes egnethed til deres specifikke anvendelse. Yderligere vilkår og betingelser kan være gældende. Se bagsiden af faktura eller pakkeseddel for yderligere vilkår og salgsbetingelser.

Procedurenr. 390  
Tidligere revision: 2003-03  
Revideret: 2003-09



**AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse**  
Egham, TW20 9BD Storbritannien

SIGMA-ALDRICH, INC.  
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765  
Teknisk service: +1 314 771 3122  
eller e-mail [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)  
Bestilling: +1 314 771 5750  
[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

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