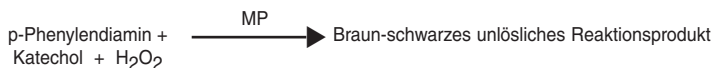


## VERWENDUNGSZWECK

Die Leukozytenperoxidase (Myeloperoxidase) von Sigma-Aldrich dient dem histochemischen Nachweis der Leukozytenperoxidase. Die Leukozytenperoxidase-Reagenzien sind für die "In-vitro-Diagnostik" bestimmt.

Die klassischen Methoden der zytochemischen Lokalisierung von Myeloperoxidase (MP) verwendeten Benzidin<sup>1</sup> oder Diaminobenzidin.<sup>2</sup> Im Jahr 1977 beschrieben Hanker et al.<sup>3</sup> die Verwendung von p-Phenylendiamin und Katechol, um injizierte Meerrettich-Peroxidase nachzuweisen. Auf diesem Indikatorsystem beruht das Verfahren von Sigma-Aldrich, wenn Myeloperoxidase durch die folgende Reaktion nachgewiesen wird:



## REAGENZIEN

**TRIZMAL™ 6,3 PUFFERKONZENTRAT**, Bestell-Nr. 90-3C  
TRIZMA® Maleat, 200 mmol/l. Mit Chloroform als Konservierungsmittel.

**PEROXIDASE-INDIKATORREAGENZ**, Bestell-Nr. 390-1  
p-Phenylendiamin-DiHCl (1 Anteil) und Katechol (2 Anteile).

**SAURE HÄMATOXYLIN-LÖSUNG**, Bestell-Nr. 285-2  
Hämatoxylin, zertifiziert, 1 g/l, pH 3,3 bei 25 °C.

### AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT:

Trizmal™ 6,3 Pufferkonzentrat und saure Hämatoxylin-Lösung sollten bei Raumtemperatur (18–26 °C) aufbewahrt werden.

Das Peroxidase-Indikatorreagenz sollte gekühlt (2–8 °C) aufbewahrt werden.

Die saure Hämatoxylin-Lösung sollte nach dem Gebrauch in der Coplin-Küvette nicht in ihren Originalbehälter zurückgegeben werden.

Wasserstoffperoxid, 3 % in phosphatgepufferter Kochsalzlösung sollte gekühlt (2–8 °C) aufbewahrt werden. Die Lösung entsorgen, falls sie sich trübt.

Die Reagenzien sind bis zum Verfallsdatum stabil.

### PRODUKTVERFALL:

Das Trizmal™ 6,3 Pufferkonzentrat entsorgen, falls es sich trübt.

Die Hämatoxylin-Lösung entsorgen, falls die erforderliche Zeit für eine entsprechende Färbung die empfohlene Zeit um mehr als 5 Minuten übersteigt.

### VORBEREITUNG:

Der Trizmal™ 6,3 Verdünnungspuffer wird durch Mischen eines Volumenanteils TRIZMAL™ 6,3 Pufferkonzentrat, Bestell-Nr. 90-3C, mit 9 Volumenanteilen entionisiertem Wasser zubereitet. Einmal verwenden und entsorgen.

Ethanol, 95 Vol.-% Fixiermittel, wird durch Mischen von 5 ml 37 %igem Formaldehyd mit 45 ml 95 %igem Ethanol zubereitet. Täglich frisch zubereiten. Fest verschlossen aufbewahren.

Wasserstoffperoxid, 3 %, in phosphatgepufferter Kochsalzlösung, wird durch Zugabe eines Anteils Wasserstoffperoxid, 30 %, zu 9 Anteilen phosphatgepufferter Kochsalzlösung pH 7,4 zubereitet. Sollte frisch zubereitet werden.

### VORSICHTSMASSNAHMEN:

Bei der Handhabung von Laborreagenzien sollten normale Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden. Bei der Entsorgung von Abfällen alle örtlichen, staatlichen und nationalen Vorschriften befolgen. Aktuelle Hinweise zu Risiken, Gefahren und Sicherheitsmaßnahmen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

### US-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Das Peroxidase-Indikatorreagenz ist TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Bei Inhalieren oder Kontakt mit der Haut kann es zu einer Sensibilisierung kommen. Äußerst toxisch für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Dieses Material und dessen Behälter müssen als Sondermüll entsorgt werden. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Siehe spezielle Anweisungen/Sicherheitsdatenblätter.

Das TRIZMAL™ Pufferkonzentrat ist SCHÄDLICH und gefährlich für die Umwelt. Bei Verschlucken schädlich. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Schädlich: Gefahr ernsthafter Gesundheitsschäden bei langdauernder Exposition durch Einatmen und Verschlucken. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

Saures Hämatoxylin ist TOXISCH. Bei Verschlucken toxisch. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Zielorgane: Nerven und Leber.

Formaldehyd ist TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Verursacht Verätzungen. Bei Inhalieren oder Kontakt mit der Haut kann es zu einer Sensibilisierung kommen. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Kann vererbare

genetische Schäden verursachen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Nur an gut durchlüfteten Orten verwenden.

Ethanol ist ENTZÜNDLICH und REIZEND. Hochentzündlich. Reizt Augen, Atmungssystem und Haut. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.

30 % Wasserstoffperoxid OXIDIERT und ist ÄTZEND. Der Kontakt mit brennbarem Material kann Brände verursachen. Verursacht Verätzungen. Von brennbarem Material fernhalten. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

### EU-Gefahren- und Sicherheitsangaben

Das Peroxidase-Indikatorreagenz ist TOXISCH und gefährlich für die Umwelt. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Reizt Augen und Haut. Kontakt mit der Haut kann zu einer Sensibilisierung führen. Äußerst toxisch für Wasserorganismen; kann langfristig Umweltschäden im Gewässersystem verursachen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Dieses Material und dessen Behälter müssen als Sondermüll entsorgt werden. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Siehe spezielle Anweisungen/Sicherheitsdatenblätter.

Saures Hämatoxylin ist SCHÄDLICH. Beim Verschlucken schädlich.

Formaldehyd ist TOXISCH. Toxisch bei Einatmen, Hautkontakt und Verschlucken. Verursacht Verätzungen. Verdacht auf krebserzeugende Wirkung. Kontakt mit der Haut kann zu einer Sensibilisierung führen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Angemessene Schutzkleidung, Handschuhe und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen). Nur an gut durchlüfteten Orten verwenden.

Ethanol ist HOCHENTZÜNDLICH. Hochentzündlich. Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen fernhalten – nicht Rauchen.

Wasserstoffperoxid ist ÄTZEND. Verursacht Verätzungen. Nach Hautkontakt sofort mit viel Wasser abwaschen. Geeignete Schutzkleidung und Augen-/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt zuziehen (wenn möglich dieses Etikett vorzeigen).

## VERFAHREN

### PROBENNAHME:

Es wird empfohlen, die Probenahme gemäß NCCLS-Dokument M29-A2 durchzuführen. Keine Testmethode kann eine absolute Gewähr liefern, dass Blut- und Gewebeproben keine Infektionen übertragen. Deshalb müssen alle Blutderivate und Gewebeproben als potenziell infektiös behandelt werden.

Für den Assay sollten frisch zubereitete Vollblut- oder Knochenmarkfilme benutzt werden. Blut kann in Heparin oder EDTA entnommen werden. Die Lichtexposition sollte minimiert werden, da die Leukozytenperoxidase photolabil ist. Unfixierte Filme sind 3 Wochen stabil, wenn sie im Dunkeln aufbewahrt werden.<sup>1</sup> Vor dem Fixieren sollten die Filme 10 Minuten lichtgeschützt an der Luft trocknen.

### SPEZIELL ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN:

Formaldehyd, 37 %, Lösung

Ethanol, 95 Vol.-%

Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, pH 7,4, Bestell-Nr. P 3813

Wasserstoffperoxid, 30 %

### HINWEISE:

Es wird empfohlen, Blutfilme von gesunden Spendern zusammen mit Patientenproben als Überprüfung der Systemleistung zu verarbeiten.

Obwohl die Myeloperoxidase allgemein als Marker für myelotische Zellen gilt, ist es wichtig, zu verstehen, dass monozytoiden Zellen ebenfalls eine schwache Peroxidase-Aktivität aufweisen können.

Die aus diesem Verfahren gewonnenen Daten dienen nur als Hilfe zur Diagnose und sollten im Zusammenhang mit anderen klinischen Diagnostiktests und Informationen überprüft werden.

### VERFAHREN:

1. Die Filme bei Raumtemperatur 30 Sekunden in **Fixiermittel** fixieren.
2. Die Objektträger unter einem weichen Strahl Leitungswasser 2 Minuten waschen und im Dunkeln 10 Minuten an der Luft trocknen lassen.
3. **50 ml TRIZMAL™ 6,3 Verdünnungspuffer** im 37 °C Wasserbad erwärmen.
4. Unmittelbar vor dem Gebrauch 1 Fläschchen Peroxidase-Indikatorreagenz, Bestell-Nr. 390-1, und 200 µl (0,2 ml) 3 % Wasserstoffperoxid dem vorgewärmten Trizmal™ 6,3 Verdünnungspuffer zugeben. Gründlich mischen. Nach Gebrauch entsorgen.
5. Die gewaschenen, fixierten Objektträger (Schritt 2) in die Peroxidase-Indikatorreagenz-Lösung (Schritt 4) für 30 Minuten im Dunkeln in das 37 °C Wasserbad geben.
6. Nach der Inkubation die Objektträger unter einem weichen Strahl Leitungswasser 15–30 Sekunden waschen und an der Luft trocknen lassen.
7. Die Objektträger 10 Minuten in saurer Hämatoxylin-Lösung, Bestell-Nr. 285-2, gegenfärben.
8. Die Objektträger unter fließendem entionisiertem Wasser 15–30 Sekunden spülen. Die Objektträger an der Luft trocknen lassen und mikroskopisch untersuchen.

---

## LEISTUNGSMERKMALE

---

Es wurden Blutfilme von normalen Spendern anhand dieses Verfahrens und mit einer Benzidin-Methode auf Myeloperoxidase gefärbt. Neutrophile wiesen mit diesem Verfahren eine braun-schwarze Granulierung und mit dem Benzidin-Verfahren eine blaue Granulierung auf. In beiden Fällen wiesen Monozyten eine weniger intensive Färbung und Lymphozyten keine Myeloperoxidase-Aktivität auf.

Falls sich die beobachteten Ergebnisse von den erwarteten Ergebnissen unterscheiden, bitte den technischen Kundendienst von Sigma-Aldrich verständigen.

---

## LITERATURANGABEN

---

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. gewährleistet, dass ihre Produkte mit den Angaben in dieser und anderen Sigma-Aldrich-Publikationen übereinstimmen. Der Anwender entscheidet selbst über die Eignung des Produkts für den jeweiligen Einsatzzweck. Es können zusätzliche Geschäftsbedingungen gelten. Weitere Informationen zu den Verkaufsbedingungen finden Sie auf der Rückseite der Rechnung oder des Lieferscheins.

Verfahren Nr. 390  
Vorherige Ausgabe: 2003-03  
Revidiert: 2003-09



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

SIGMA-ALDRICH, INC.

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765

Technischer Kundendienst: R-Gespräch +1 314 771 3122

oder Email an [clintech@sial.com](mailto:clintech@sial.com)

Bestellungen: R-Gespräch +1 314 771 5750

[www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

Postfach 1120, 89552 Steinheim, Deutschland 49-7329-970