

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η Υπεροξειδάση Λευκοκυττάρων (Μυελούπεροξειδάση) προορίζεται για χρήση σε ιστοχημικό εντοπισμό της υπεροξειδάσης λευκοκυττάρων. Τα αντιδραστήρια Υπεροξειδάσης Λευκοκυττάρων προορίζονται για "In Vitro διαγνωστική χρήση".

Οι κλασικές μέθοδοι κυτταροχημικού εντοπισμού της μυελούπεροξειδάσης (MP) χρησιμοποιούν βενζιδίνη¹ ή διαμνοβενζιδίνη.² Το 1977, οι Hanker et al.³ περιέγραψαν τη χρήση της π-φαινυλενοδιαμίνης και της κατεχόλης για την ανίχνευση της υπεροξειδάσης του χρένου που είχε εισαχθεί με ένεση. Αυτό το ενδεικτικό σύστημα αποτελεί τη βάση για τη διαδικασία της Sigma-Aldrich όταν ανιχνεύεται μυελούπεροξειδάση με την ακόλουθη αντίδραση:



ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

ΠΥΚΝΟ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ TRIZMAL™ 6,3, Αρ. Καταλόγου 90-3C
TRIZMA® μηλεϊνικού, 200 mmol/l. Ως συντηρητικό προστίθεται χλωροφόρμιο.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΔΕΙΞΗΣ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗΣ, Αρ. Καταλόγου 390-1
π-Φαινυλενοδιαμίνη diHCl (1 μέρος) και κατεχόλη (2 μέρος).

ΔΙΑΛΥΜΑ ΟΞΙΝΗΣ ΑΙΜΑΤΟΞΥΛΙΝΗΣ, Αρ. Καταλόγου 285-2
Αιματοξυλίνη, πιστοπ., 1 g/L, pH 3,3 στους 25 °C.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ:

Το Πυκνό Ρυθμιστικό Διάλυμα Trizmal™ 6,3 και το Διάλυμα Όξινης Αιματοξυλίνης πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου (18–26 °C).

Το Αντιδραστήριο Ένδειξης Υπεροξειδάσης πρέπει να φυλάσσεται στο ψυγείο (2–8 °C).

Το Διάλυμα Όξινης Αιματοξυλίνης δεν πρέπει να επιστρέφεται στο αρχικό δοχείο μετά τη χρήση σε δοχείο Corlin.

Το υπεροξειδίο του Υδρογόνου, 3 % σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών πρέπει να φυλάσσεται στο ψυγείο (2–8 °C). Απορρίψτε αν αναπτυχθεί θολερότητα.

Τα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης.

ΑΠΟΣΥΝΘΕΣΗ:

Απορρίψτε το Πυκνό Ρυθμιστικό Διάλυμα Trizmal™ 6,3 αν αναπτυχθεί θολερότητα.

Απορρίψτε το Διάλυμα Όξινης Αιματοξυλίνης όταν ο χρόνος που απαιτείται για κατάλληλη χρώση υπερβεί τον χρόνο που συνιστάται στη διαδικασία κατά περισσότερο από 5 λεπτά.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ:

Το Αραιό Ρυθμιστικό Διάλυμα Trizmal™ 6,3 παρασκευάζεται με ανάμιξη 1 όγκου Πυκνού Ρυθμιστικού Διαλύματος TRIZMAL™ 6,3, Αρ. Καταλόγου 90-3C, με 9 όγκους απιονισμένου νερού. Χρησιμοποιήστε το μια φορά και μετά απορρίψτε το.

Το Στερεωτικό Διάλυμα Αιθανόλης 95 % (v/v), παρασκευάζεται με ανάμιξη 5 mL φορμαλδεΐδης 37 % με 45 ml αιθανόλης 95 %. Παρασκευάζετε νέο διάλυμα κάθε μέρα. Φυλάσσεται καλά κλεισμένο.

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου 3 % σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, παρασκευάζεται με προσθήκη 1 μέρους υπεροξειδίου του υδρογόνου 30%, σε 9 μέρη ρυθμιστικού διαλύματος φωσφορικών pH 7,4. Πρέπει να παρασκευάζεται φρέσκο.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ:

Πρέπει να ακολουθούνται οι συνηθισμένες προφυλάξεις που εφαρμόζονται στο χειρισμό αντιδραστηρίων στο εργαστήριο. Απορρίψτε τα απόβλητα λαμβάνοντας υπόψη όλους τους τοπικούς, κρατικούς, επαρχιακούς ή εθνικούς κανονισμούς. Ανατρέξτε στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού για οποιεσδήποτε ενημερωμένες πληροφορίες κινδύνου, ατυχήματος ή ασφάλειας.

Κίνδυνοι και Δηλώσεις Ασφαλείας στις Η.Π.Α

Το Αντιδραστήριο Ένδειξης Υπεροξειδάσης είναι ΤΟΞΙΚΟ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν καταποθεί. Ερεθιστικό για μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση αν τα εισπνεύσετε και κατά την επαφή με το δέρμα. Πολύ τοξικό σε υδρόβιους οργανισμούς, πιθανώς να προκαλεί μακροχρόνιες ανεπιθύμητες επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Αυτό το υλικό και το δοχείο του πρέπει να απορρίπτονται ως επικίνδυνα απορρίμματα. Αποφύγετε απευθείας έκθεση στο περιβάλλον. Ανατρέξτε σε ειδικές οδηγίες/φύλλα δεδομένων ασφαλείας.

Το Πυκνό Ρυθμιστικό Διάλυμα TRIZMAL™ είναι ΒΛΑΒΕΡΟ και επικίνδυνο για το περιβάλλον. Βλαβερό αν το καταπιείτε. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Βλαβερό: κίνδυνος σοβαρής βλάβης στην υγεία κατά την παρατεταμένη έκθεση με εισπνοή και κατάποση. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Η Όξινη Αιματοξυλίνη είναι ΤΟΞΙΚΗ. Τοξική αν την καταπιείτε. Ερεθιστικό για μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Όργανα στόχοι: Νεύρα και ήπαρ.

Η φορμαλδεΐδη είναι ΤΟΞΙΚΗ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν καταποθεί. Προκαλεί εγκαύματα. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση αν τα εισπνεύσετε και κατά την επαφή με το δέρμα. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Πιθανό αίτιο κληρονομιάς γενετικής βλάβης. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Χρησιμοποιήστε μόνο σε μέρος με καλό αερισμό.

Η αιθανόλη είναι ΕΥΦΛΕΚΤΗ και ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ. Πολύ εύφλεκτη. Ερεθιστικό για μάτια, το αναπνευστικό σύστημα και το δέρμα. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης – μην καπνίζετε. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό.

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου 30 % είναι ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ και ΔΙΑΒΡΩΤΙΚΟ. Η επαφή με εύφλεκτο υλικό μπορεί να προκαλέσει πυρκαγιά. Προκαλεί εγκαύματα. Κρατήστε το μακριά από εύφλεκτα υλικά. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

Κίνδυνοι και Δηλώσεις ασφαλείας στην ΕΕ

Το Αντιδραστήριο Ένδειξης Υπεροξειδάσης είναι ΤΟΞΙΚΟ και επικίνδυνο για το περιβάλλον. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν καταποθεί. Ερεθιστικό για τα μάτια και το δέρμα. Είναι πιθανόν να προκαλέσει ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Πολύ τοξικό σε υδρόβιους οργανισμούς, πιθανή αιτία μακροχρόνιων ανεπιθύμητων επιπτώσεων στο υδάτινο περιβάλλον. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και γάντια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Αυτό το υλικό και το δοχείο του πρέπει να απορρίπτονται ως επικίνδυνα απορρίμματα. Αποφύγετε απευθείας έκθεση στο περιβάλλον. Ανατρέξτε σε ειδικές οδηγίες/φύλλα δεδομένων ασφαλείας.

Η Όξινη Αιματοξυλίνη είναι ΒΛΑΒΕΡΗ. Βλαβερό αν το καταπιείτε.

Η φορμαλδεΐδη είναι ΤΟΞΙΚΗ. Τοξικό κατά την εισπνοή, σε επαφή με το δέρμα και αν καταποθεί. Προκαλεί εγκαύματα. Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογόνες επιδράσεις. Είναι πιθανόν να προκαλέσουν ευαισθητοποίηση κατά την επαφή με το δέρμα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική συμβουλή. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό, γάντια και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό). Χρησιμοποιήστε μόνο σε μέρος με καλό αερισμό.

Η αιθανόλη είναι ΠΟΛΥ ΕΥΦΛΕΚΤΗ. Πολύ εύφλεκτη. Διατηρείτε το δοχείο καλά κλεισμένο. Διατηρήστε το μακριά από πηγές ανάφλεξης – μην καπνίζετε.

Το υπεροξειδίο του υδρογόνου είναι ΔΙΑΒΡΩΤΙΚΟ. Προκαλεί εγκαύματα. Μετά από επαφή με το δέρμα, πλύνετε αμέσως με άφθονο νερό. Να φοράτε κατάλληλο προστατευτικό ρουχισμό και προστασία για τα μάτια/πρόσωπο. Σε περίπτωση ατυχήματος ή αν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε αμέσως ιατρική συμβουλή (δείτε την ετικέτα όπου είναι δυνατό).

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ:

Συνιστάται η συλλογή δειγμάτων να διεξάγεται σύμφωνα με το έγγραφο M29-A2 του NCCLS. Καμία γνωστή μέθοδος εξέτασης δεν μπορεί να προσφέρει απόλυτη διαβεβαίωση ότι τα δείγματα αίματος ή ιστού δεν μεταδίδουν λοιμώξεις. Επομένως, όλα τα παράγωγα αίματος ή δείγματα ιστών πρέπει να θεωρούνται ενδοχόμενες λοιμώδη.

Για τη δοκιμασία πρέπει να χρησιμοποιείται πρόσφατο συνολικό αίμα ή λεπτές στρώσεις μυελού των οστών. Το αίμα μπορεί να συλλέγεται σε ηπαρίνη ή EDTA. Η έκθεση στο φως πρέπει να ελαχιστοποιείται καθώς η υπεροξειδάση των λευκοκυττάρων είναι φωτοασταθής. Μη στερεωμένες λεπτές στρώσεις αναφέρεται ότι είναι σταθερά για 3 εβδομάδες όταν διατηρούνται στο σκοτάδι.¹ Αφήστε τις λεπτές στρώσεις να στεγνώσουν επί 10 λεπτά, προστατευμένα από το φως, πριν τη στερέωση.

ΕΙΔΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ:

Διάλυμα Φορμαλδεΐδης, 37 %

Αιθανόλη, 95 % (v/v)

Ρυθμιστικό Διάλυμα Φωσφορικών, pH 7,4, Αρ. Καταλόγου P 3813

Υπεροξειδίο του υδρογόνου, 30 %

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ:

Συνιστάται οι λεπτές στρώσεις αίματος που παρασκευάζονται από υγιείς δότες να επεξεργάζονται με δείγματα ασθενών ως έλεγχος απόδοσης του συστήματος.

Παρόλο που η μυελοϋπεροξειδάση θεωρείται γενικά δείκτης για κύτταρα μυελοκυτταρικής προέλευσης, είναι αναγκαίο να αναγνωρίσουμε ότι τα μονοκύτταρα κύτταρα μπορούν επίσης να εμφανίσουν ασθενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης.

Τα δεδομένα που λαμβάνονται από τη διαδικασία αυτή εξυπηρετούν μόνο ως βοήθημα στη διάγνωση και δεν πρέπει να επιθεωρούνται σε συνδυασμό με άλλες κλινικές διαγνωστικές εξετάσεις ή πληροφορίες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ:

1. Στερεώστε τις λεπτές στρώσεις σε θερμοκρασία δωματίου για 30 δευτερόλεπτα σε **Στερεωτικό Διάλυμα**.
2. Πλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε νερό της βρύσης που τρέχει ήπια επί 2 λεπτά και αφήστε να στεγνώσουν στον αέρα στο σκοτάδι επί 10 λεπτά.
3. **Προθερμάνετε 50 ml Αραιό Ρυθμιστικό Διάλυμα TRIZMAL™ 6,3** σε υδατόλουτρο 37 °C.
4. Αμέσως πριν τη χρήση, προσθέστε 1 φιαλίδιο Αντιδραστήριο Ένδειξης Υπεροξειδάσης, Αρ. Καταλόγου 390-1, και 200 μl (0.2 ml) 3 % υπεροξειδίου του υδρογόνου στο προθερμασμένο αραιό ρυθμιστικό διάλυμα Trizmal™ 6,3. Αναμίξτε πλήρως. Απορρίψτε το μετά τη χρήση.
5. Τοποθετήστε τις πλυμένες αντικειμενοφόρους που έχουν υποστεί στερέωση (Βήμα 2) σε Διάλυμα Αντιδραστήριου Ένδειξης Υπεροξειδάσης (Βήμα 4) επί 30 λεπτά στο σκοτάδι σε υδατόλουτρο 37 °C.
6. Μετά την επώαση, πλύνετε τις αντικειμενοφόρους με νερό της βρύσης που τρέχει ήπια για 15–30 δευτερόλεπτα και αφήστε τις να στεγνώσουν στον αέρα.
7. Πραγματοποιήστε Αντίχρωση με Διάλυμα Ώξινης Αιματοξυλίνης, Αρ. Καταλόγου 285-2, επί 10 λεπτά.
8. Ξεπλύνετε τις αντικειμενοφόρους σε τρεχούμενο απιονισμένο νερό επί 15–30 δευτερόλεπτα. Στεγνώστε τις στον αέρα και εξετάστε τις αντικειμενοφόρους στο μικροσκόπιο.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Λεπτές στρώσεις αίματος που παρασκευάστηκαν από φυσιολογικούς δότες χρωματίστηκαν για μυελοϋπεροξειδάση σύμφωνα με αυτή τη διαδικασία και με μέθοδο βενζιδίνης.¹ Τα ουδετερόφιλα έδειξαν καφέ-μαύρη κοκκίωση με αυτή τη διαδικασία και μπλε κοκκίωση με τη διαδικασία βενζιδίνης. Και στις δύο περιπτώσεις, τα μονοκύτταρα χρωματίστηκαν λιγότερο έντονα και τα λεμφοκύτταρα δεν έδειξαν δραστηριότητα μυελοϋπεροξειδάσης.



Αν τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν αποκλίνουν από τα αναμενόμενα, επικοινωνήστε με την Τεχνική Εξυπηρέτηση της Sigma-Aldrich για βοήθεια.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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.

Η Sigma-Aldrich, Inc. εγγυάται ότι τα προϊόντα της συμμορφώνονται με τις πληροφορίες που περιέχονται σε αυτή και σε άλλες εκδόσεις της Sigma-Aldrich. Ο αγοραστής πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα του(ων) προϊόντος(ων) για τη συγκεκριμένη χρήση τους. Πιθανόν να ισχύουν πρόσθετοι όροι και συνθήκες. Βλ. αντίστροφη πλευρά του τιμολογίου ή της ταινίας συσκευασίας για επιπλέον όρους και συνθήκες πώλησης.

Αρ. Διαδικασίας 390
Προηγούμενη αναθεώρηση: 2003-03
Αναθεωρημένη: 2003-09

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

SIGMA-ALDRICH, INC.
3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA +1 314 771 5765
Τεχνική υπηρεσία: χρωστική κλήση +1 314 771 3122
ή στείλτε e-mail στην clintech@sial.com
Για παραγγελίες: χρωστική κλήση +1 314 771 5750
www.sigma-aldrich.com

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