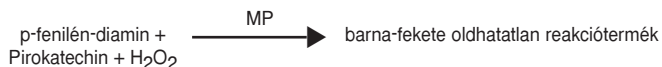


FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Sigma-Aldrich Leukocyte Peroxidase (Myeloperoxidase) hisztokémiai bemutatására használandó leukocita peroxidázban. A Leukocyte Peroxidase reagens "in vitro diagnosztikai" felhasználásra javallt.

A mieloperoxidáz (MP) citokémiai lokalizációjának klasszikus módszereihez benzidint¹ vagy diamino-benzidint használnak.² 1977-ben, Hanker és társai³ leírták a p-fenilén-amin és pirokatechin használatát az injektált torna peroxidáz kimutatására. Ez az indikátor rendszer a Sigma-Aldrich eljárás alapja, amikor a mieloperoxidáz a következő reakciókkal mutatják ki:



REAGENSEK

TRIZMAL™ 6.3 BUFFER CONCENTRATE, katalógus szám: 90-3C
TRIZMA® maleát, 200 mmol/l. Tartósítószer: kloroform.

PEROXIDASE INDICATOR REAGENT, katalógus szám: 390-1
p-fenilén-diamin diHCl (1 rész) és pirokatechin (2 rész).

ACID HEMATOXYLIN SOLUTION, Katalógus szám: 285-2
Hematoxilín, igazolt, 1 g/l, pH=3,3 25 °C-on.

TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

A Trizmal™ 6.3 Buffer Concentrate és az Acid Hematoxylin Solution szobahőmérsékleten (18–26 °C) tárolandó.

A Peroxidase Indicator Reagent hűtve (2–8 °C)-on tárolandó.

Az Acid Hematoxylin Solution-t tilos visszatenni az eredeti tároló edényzetébe Coplin edényben való használat után.

A Hydrogen Peroxide, 3 % Phosphate Buffered Saline Solution-ban hűtve tárolandó (2–8 °C)-on. Ha zavarossá válik, meg kell semmisíteni.

A reagensek a lejáratú dátumig használhatók fel.

MEGROMLÁS:

A Trizmal™ 6.3 Buffer Concentrate megsemmisítendő, ha zavarossá válik.

Az Acid Hematoxylin Solution megsemmisítendő, ha a megfelelő festéshez szükséges idő több, mint 5 perccel meghaladja az eljárásban javasolt időt.

ELŐKÉSZÍTÉS:

A Trizmal™ 6.3 Dilute Buffer-t úgy készítik, hogy 1 térfogategységnyi TRIZMAL™ 6.3 Buffer Concentrate-t (katalógus szám: 90-3C) összekevernek 9 térfogategységnyi ioncserélt vízzel. Egyszer használandó, majd megsemmisítendő!

Az Ethanol, 95 % (v/v) Fixative Solution-t úgy készítik, hogy 5 ml 37 %-os formaldehidet összekevernek 45 ml 95 %-os etanollal. Naponta frissen készítened. Szorosan lezárva tartandó.

A Hydrogen Peroxide-t, 3 %, Phosphate Buffered Saline Solution-ban, úgy készítik, hogy 1 rész hidrogén-peroxidot (30 %) adnak 9 rész Phosphate Buffered Saline Solution-hoz (pH=7,4). Frissen készítened.

ÖVINTÉZKEDÉSEK:

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

Az Amerikai Egyesült Államok kockázati és biztonsági mondatai

A Peroxidase Indicator Reagent MÉRGEZŐ. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Korlátozott bizonyítékok alapján rákkeltő (karcinogén) hatású. Belélegezve és bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat (szenzibilizáló hatású lehet). Nagyon mérgező a vízi szervezetekre, a vízi környezetben hosszantartó károsodást okozhat. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Az anyagot és edényzetét veszélyes hulladékként kell ártalmatlanítani. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd külön utasítások/biztonsági adatlapok.

A TRIZMAL™ Buffer Concentrate ÁRTALMAS és veszélyes a környezetre. Lenyelve ártalmas. Korlátozott bizonyítékok alapján rákkeltő (karcinogén) hatású. Hosszabb időn át belélegezve és szájon keresztül a szervezetbe jutva ártalmas: súlyos egészségkárosodást okozhat. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

Az Acid Hematoxylin MÉRGEZŐ. Lenyelve mérgező (toxikus). A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Célszervek: Idegek és máj.

A formaldehid MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Belélegezve és bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat (szenzibilizáló hatású lehet). Korlátozott bizonyítékok alapján rákkeltő

(karcinogén) hatású. Örökös genetikai károsodást okozhat (mutagén hatású lehet)! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Jól szellőztethető helyen használandó!

Az etanol GYŰLÉKONY és INGERLŐ. Rendkívül gyúlékony. A szemet, légzőrendszert és bőrt irritálja. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A 30 %-os hidrogén-peroxid ÉGÉST TÁPLÁLÓ (OXIDÁLÓ) és MARÓ. Éghető anyaggal érintkezve tüzet okozhat. Égési sérülést okoz. Éghető anyagoktól távol tartandó. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Az Európai Unió kockázati és biztonsági mondatai

A Peroxidase Indicator Reagent MÉRGEZŐ (TOXIKUS) és veszélyes a környezetre. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Szem- és bőrizgató hatású. Bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat (szenzibilizáló hatású lehet). Nagyon mérgező a vízi szervezetekre, a vízi környezetben hosszantartó károsodást okozhat. Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Az anyagot és edényzetét veszélyes hulladékként kell ártalmatlanítani. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd külön utasítások/biztonsági adatlapok.

Az Acid Hematoxylin ÁRTALMAS. Lenyelve ártalmas.

A formaldehid MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Korlátozott bizonyítékok alapján rákkeltő (karcinogén) hatású. Bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat (szenzibilizáló hatású lehet). Ha szembe kerül, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni! Megfelelő védőruházatot, védőkesztyűt és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Jól szellőztethető helyen használandó!

Az etanol RENDKÍVÜL GYŰLÉKONY. Rendkívül gyúlékony. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos!

A hidrogén-peroxid MARÓ. Égési sérülést okoz. Ha az anyag bőrre kerül, bő vízzel azonnal le kell mosni. Megfelelő védőruházatot és szem-, illetve arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

ELJÁRÁS

MINTA BEGYŰJTÉSE:

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

A vizsgálathoz frissen készített egész vér vagy csontvelő hártályak használandók. A vért heparinban vagy EDTA-ban kell gyűjteni. A fénynek való expozíciót minimálisra kell csökkenteni, mivel a leukocita peroxidáz fényérzékeny. A nem fixált hártályak 3 hétig használhatók, ha sötétben tartják.¹ Hagyják a hártályakat 10 percig levegőn száradni, fénytől védve, a fixálás előtt.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK

Formaldehid oldat (37 %)

Etanol (95 tf %)

Phosphate Buffered Saline, pH=7,4, Katalógus szám: P 3813

Hidrogén-peroxid (30 %)

MEGJEGYZÉSEK:

Javasolt, hogy az egészséges donorokból származó vér hártályakat a beteg mintáival együtt dolgozzák fel a rendszer teljesítményének ellenőrzése végett.

Habár a mieloperoxidáz általában a mielocitikus eredetű sejtek jelének tekintik, fel kell ismerni, hogy a monocitoid sejtek szintén mutathatnak gyenge peroxidáz aktivitást.

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

ELJÁRÁS:

1. Fixálják a hártályakat szobahőmérsékleten 30 másodpercig **Fixative Solution**-ban.
2. Óvatosan mossák a tárgylemezeket folyó csapvízzel 2 percig és hagyják sötétben, levegőn száradni 10 percig.
3. **Melegítsenek meg 50 ml TRIZMAL™ 6.3 Dilute Buffer-t** 37 °C-os vízfürdőn.
4. Közvetlenül használat előtt adjanak 1 ampulla Peroxidase Indicator Reagent-t, katalógus szám: 390-1, és 200 µl (0,2 ml) 3 % hidrogén-peroxidot a felmelegített Trizmal™ 6.3 Dilute Buffer-hez. Alaposan keverjék össze. Használat után megsemmisítendő.
5. Helyezzék a mosott, fixált tárgylemezeket (2. lépés) a Peroxidase Indicator Reagent Solution-ba (4. lépés) 30 percre sötétben 37 °C-on vízfürdőn.
6. Inkubálás után, óvatosan mossák a tárgylemezeket folyó csapvízben 15-30 másodpercig és hagyják levegőn megszáradni.
7. Fessék után a tárgylemezeket 10 percig Acid Hematoxylin Solution-ban (katalógus szám: 285-2).
8. Öblítsék a tárgylemezeket folyó ioncserélt vízben 15-30 másodpercig. Levegőn szárítsák és vizsgálják meg mikroszkóppal a tárgylemezeket.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A normál donoroktól származó vér hárttyákat mieloperoxidázra festették ezzel az eljárással és egy benzidines módszerrel. Ezzel az eljárással a neutrofilek barna-kék granulációt mutattak, a benzidines eljárással pedig kék granulációt. Mindkét esetben, a monociták kevésbé intenzíven festettek, a limfociták pedig nem mutattak mieloperoxidáz aktivitást.

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

IRODALOMJEGYZÉK

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. Harker 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.

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

Eljárás száma: 390
Korábbi felülvizsgálat: 2003-03
Átdolgozva: 2003-09



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

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

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