

# Souprava Kit Myeloperoxidase

## Fixace a diferenciální barvení buněčných struktur

Pro použití v laboratoři vyškoleným personálem. In Vitro diagnostické zařízení.

### 1 – Použití

Cytochemikální detekce myeloperoxidázy aktivity je často používána pro diagnózu akutních leukemií. Pozitivní výsledek je silným ukazatelem pro myeloidní diferenciaci.

### 2 – Princip stanovení

Granula peroxidázy tvoří nerozpustnou, výrazně červenou sloučeninu s Pyroninem, za přítomnosti Alpha-Naphtolu a Peroxidu Vodíku. Jádra leukocytů jsou nabarvená modře barvou Mayer Haematoxylin.

Tato metoda je velmi výhodná, protože není založena na použití benzidinu. Studie od Latger-Cannard et al. provedená na 101 akutních leukemiích (AL) prokázala 96% specifitu a 99% citlivost metody, s cut-off 3% pro pozitivitu. Barvení založené na alfa-naftolu/pyroninu má průměrný počet pozitivních blastů menší než u benzidinu, ale bez výskytu AL klasifikace.

### 3 – Reagencie

|                           |                       |
|---------------------------|-----------------------|
| Formalin / Ethanol Roztok | Aplhanaphtol roztok   |
| 310850-0125 1 x 125 ml    | 320750-0030 1 x 30 ml |
| Pyronin 0,2% vodný roztok | Peroxid Vodíku 3%     |
| 361800-0125 1 x 125 ml    | 300980-0010 1 x 10 ml |
| Mayer Haematoxylin        |                       |
| 361620-0125 1 x 125 ml    |                       |

### Potřebný, nedodaný materiál:

Skříčka pro mikroskopování.

### 4 – Skladování a manipulace

Výše uvedené reagencie skladujte při pokojové teplotě (15 – 25°C), mimo přímé sluneční světlo.

Datum expirace před a po otevření jsou uvedeny na obalu.







Veškerá manipulace se vzorky a reagensy musí být prováděna vyškoleným personálem dle relevantních norem. Při manipulaci používejte správná ochranná zařízení pro jednotlivce i pro pracoviště dle příslušných regulací.

Personál musí být obeznámen s klasifikací nebezpečí materiálu. Kompletní informace viz bezpečnostní list pro uvedené reagensy.

Měření musí být provedeno autorizovaným personálem dle platných laboratorních řádů.

### 5 - Preventivní opatření pro manipulaci:

|   |   |
|---|---|
| Formalin / Ethanol Roztok   |   |
| P210: Držte mimo zdroje tepla, teplých povrchů, zdrojů jiskření a otevřeného ohně.<br>Nekuřte.<br>P261: Nevdechujte páry, prach, aerosol, mlhu.<br>P264: Důkladně si umyjte ruce po manipulaci.<br>P280: Používejte osobní ochranné prostředky – rukavice, oblečení, ochranu očí a obličeje.<br>P308+P313: Při vystaví látce nebo podezření: Vyhledejte lékařskou pomoc.<br>Obsahuje 24% HCHO |   |
| Alphanaphtol Roztok   |   |
| P210: Držte mimo zdroje tepla, teplých povrchů, zdrojů jiskření a otevřeného ohně.<br>Nekuřte.<br>P280: Používejte osobní ochranné prostředky – rukavice, oblečení, ochranu očí a obličeje.<br>P337+P313: Při podráždění očí vyhledejte lékařskou pomoc.  |   |
| Pyronin 0,2% vodný roztok   |  |
| P280: Používejte osobní ochranné prostředky – rukavice, oblečení, ochranu očí a obličeje.<br>P308+P313: Při vystaví látce nebo podezření: Vyhledejte lékařskou pomoc.<br>Obsahuje 24% HCHO<br>EUH 208: Obsahuje 24% Formol. Může způsobit alergickou reakci.  |   |
| Mayer Haematoxylin  |  |
| P301+P312: Při požití: Při potížích volejte Toxikologické Středisko nebo lékařskou pomoc.   |   |

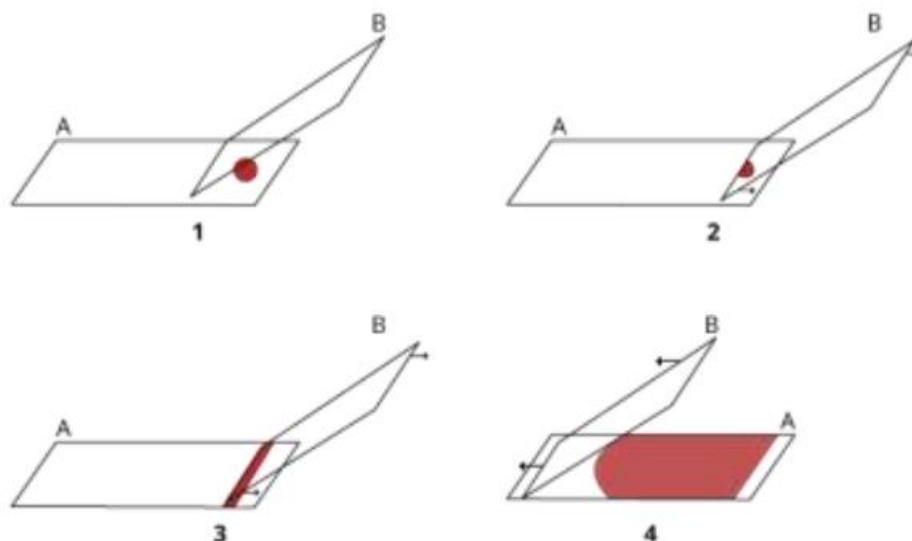
### 6 – Příprava vzorku

Manipulujte se vzorky dle laboratorních norem.

Zkumavku se vzorkem promíchejte pomalou inverzí. Na zkumavku nasadte kapátko a na sklíčko dejte kapku krve. Druhým sklíčkem, v úhlu 45°, nejprve nechte kapku kapilárně rozšířit na šířku sklíčka, pak sklíčkem protáhněte krev podél dolního sklíčka.

Dobrý nátěr nesahá na konec sklíčka, je postupně tenčí a na konci roztřepený.

Před barvením nechte nátěr uschnout.



Pozn.: Pokud nemáte k dispozici kapátko na zkumavky, zkumavku se vzorkem otevřete a použijte pipetu.

### 7 – Příprava reagensí a nástrojů

Formalin / Ethanol roztok a Mayer haematoxylin roztok jsou připraveny k použití.

Připravte peroxidázovou barvu v míchací lahvičce č.5. Do ní přidejte 1 ml Alpha-naphtol roztok, 4 ml roztoku Pyroninu a pak 1 kapku Peroxidu Vodíku.

### 8 – Protokoly

Níže uvedené protokoly sestávají z postupných pokrývání sklíček s různými reagensiemi. Na barvicí kroky metody dejte sklíčko na stojánek s nátěrem nahoru.

Výrobce RAL Diagnostics doporučuje vytvořit referenční vzorek nátěrem krve bez žádné známe patologie.

#### Krevní nátěr – manuální barvení – manuální mikroskopická analýza

Délka barvení: 10 minut

| Kroky      | Reagencie          | Čas [min:s] | Instrukce                    |
|------------|--------------------|-------------|------------------------------|
| Fixace     | Formalin / Ehtanol | 01:00       | -                            |
| Opláchnutí | Voda               | -           | -                            |
| Schnutí    | -                  | -           | Na vzduchu                   |
| Barvení    | Peroxidáza         | 03:00       | Odstraňte barvu a opláchněte |
| Opláchnutí | Voda               | -           | -                            |
| Schnutí    | -                  | -           | Na vzduchu                   |
| Barvení    | Mayer haematoxylin | 03:00       | Rychle opláchněte            |
| Opláchnutí | Voda               | 03:00       | -                            |
| Schnutí    | -                  | -           | Na vzduchu                   |

\* Odstraňte vosk a hydratujte histologický vzorek v příslušných reagensích před barvením.

Výrobce: RAL Diagnostics – Site Montesquieu – 33650 Martillac – Francie

Ral-diagnostics.fr – cellavision.com

## 9 – Předpokládané výsledky

**Peroxidázová granula:** výrazně červená

**Neuclei leukocytů:** modrá

**Erythrocyty:** světle béžová.

Pokud se výsledky liší, kontaktujte prosím výrobce nebo jeho zástupce.

## 10 - Charakteristika

Analytická validita reagensů je zaručena CE certifikací. Pro optimální výsledky používejte čisté a suché laboratorní příslušenství. Laboratoř je zodpovědná za kontaktování výrobce nebo jeho zástupce při jakékoliv závažné příhodě.

## 11 – Kontrola kvality

Uživatelé jsou zodpovědní za provedení kontroly kvality, její procedury a návaznosti s příslušnými laboratorními řády.

Výrobce (RAL Diagnostics) doporučuje barvit pozitivní a negativní nátěr pro každou obnovu reagensie a pro každý první barvicí cyklus dne. Tyto nátěry by měly být porovnány s kontrolními sklíčky, abyste zajistili konzistentní kvalitu výsledků.

### Stabilita barvy:

Kvalita a reprodukovatelnost barvení závisí na správném použití produktů. Barvení dle výše uvedených doporučení je stabilní po dobu několik dní.

## 12 – Bezpečnostní údaje

Se všemi vzorky biologického původu by se mělo manipulovat jako s potenciálně infekčními. Likvidaci provádějte dle místních platných regulací.

Chemický a biologický odpad musí být shromážděn a likvidován registrovanými společnostmi. Bezpečnostní údaje jednotlivých reagensů naleznete v jejich příslušných bezpečnostních listech.

## 13 – Reference

**JOHAIS T., DANIEL M.T., FLANDRIN G.,** *Valeur comparée des réactions à labenzidine et à l'alphannaphtol pour la mise en évidence de l'activité peroxydase dans les cellules leucémiques*, Path. Biol., vol. 29, n°3, 1981, p. 189-192.

**LATGER-CANNARD V, BARDET V, MALET M, LAGRANGE M, EMPEREUR F, FENNETEAU O.** *valuation of Peroxidase Activity by Alpha-naphthol / Pyronine Staining Compared with Benzidine Staining in 101 acute Leukemia Cases*, Lab. Hematol, 2010 Dec,16(4):76-82.

**THEML H.,** *ATLAS de poche d'Hématologie, Médecine-Sciences Flammarion, p. 19-25, 2000*

Revize: 05\_2022