

Protocole n° 05

Kit Myéloperoxydase

(Réf. : 361610-0000)

Kit de coloration par l'alphanaftol-pyronine

Principe :

La détermination de l'activité myéloperoxydasique est utilisée en routine pour le diagnostic des leucémies aiguës. Sa positivité représente un marqueur fort de différenciation myéloïde. Les granulations myéloperoxydasiques forment un complexe insoluble, rouge vif avec la pyronine en présence d'alphanaftol et de peroxyde d'hydrogène. Les noyaux des leucocytes sont colorés en bleu par l'Hématoxyline de Mayer.

Description du kit :

Alphanaphtol en solution	1 x 30 mL
Solution Formol / Ethanol	1 x 125 mL
Hématoxyline de Mayer	1 x 125 mL
Peroxyde d'hydrogène	1 x 10 mL
Pyronine en solution aqueuse à 0,2%	1 x 125 mL
Flacon mélangeur	

Le coffret permet de réaliser 30 lames.
Temps de réalisation : 10 minutes.

Préparation des échantillons :

Les échantillons doivent être préparés conformément aux méthodes en vigueur dans le laboratoire, en l'application de l'Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. n°287 du 11 décembre 1999.

Mode opératoire :

Veuillez lire attentivement l'intégralité des informations qui suivent avant d'utiliser le produit.

- Réaliser la coloration parallèlement avec une lame de sang normal comme témoin.
- Fixer le frottis 1 minute avec le mélange formol-éthanol (flacon ❶).
- Rincer la lame à l'eau courante et la laisser sécher à l'air.
- Préparer le colorant des peroxydases dans le flacon mélangeur étiqueté ❷ :
 - Alphanaphtol en solution (flacon ❷) : 1 ml
 - Pyronine en solution aqueuse à 0,2% (flacon ❸) : 4 ml
 - Peroxyde d'hydrogène (flacon ❹) : 1 goutte
- Colorer le frottis avec le colorant des peroxydases (flacon ❺) pendant 3 minutes
- Rincer la lame à l'eau courante et la laisser sécher à l'air.
- Couvrir le frottis avec l'Hématoxyline de Mayer pendant 3 minutes (flacon ❻)
- Rincer la lame à l'eau courante et la recouvrir d'eau courante pendant 3 minutes (indispensable pour différencier l'Hématoxyline).
- Laisser le frottis sécher à l'air.

Résultats :

Granulations peroxydasiques : rouge vif.
Noyaux des leucocytes : bleu.
Hématies : beige clair.

Recommandations et/ou notes d'utilisation :

Produit destiné à un usage exclusivement professionnel pour le Diagnostic in vitro. L'enlèvement et le traitement des déchets chimiques et biologiques doivent être effectués par une entreprise spécialisée et agréée.

Température de stockage : 15 – 25 °C.

Cette technique présente l'avantage de ne pas utiliser la benzidine base. Une étude réalisée sur 101 cas de leucémies aiguës par l'équipe du Dr. Latger-Cannard, a montré une spécificité de 99 % ainsi qu'une sensibilité de 96 % et un seuil de positivité de 3 %. La moyenne de positivité des blastes par la coloration à l'alphanaftol-pyronine est statistiquement plus faible que celle à la benzidine, mais sans incidence sur la classification des leucémies aiguës.

La solution d'Hématoxyline de Mayer doit être conservée à l'abri de la lumière après chaque usage.

Références Bibliographiques :

JOHAIS T., DANIEL M.T., FLANDRIN G., *Valeur comparée des réactions à la benzidine et à l'alpha-naphtol 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. *Evaluation 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.