

کیت رنگ آمیزی آهن در نمونه‌های آسپیره و بیوپسی مغز استخوان / نمونه‌های خون محیطی

دیگر نام‌های شناخته شده: رنگ آمیزی پروسین بلو

Prussian blue stain or Perl's reaction
Investigation Use Only (IUO)
Ref: APIRONSKI

مقدمه و اصول:

کیت رنگ آمیزی آهن برای مشخص شدن ذخیره آهن در برش بافت، نمونه مغز استخوان و گرانول سیدروپتیک موجود در گلبول‌های قرمز نمونه خون محیطی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. به طور معمول مقدار آهن موجود در طحال و مغز استخوان بسیار کم است. این مقدار در انواع مختلف کم خونی از جمله تالاسمی، آنمی سیدروبلاستیک، آنمی آپلاستیک، عفونت‌ها، اختلالات التهابی و بدخیمی‌های هماتوپتیک افزایش می‌یابد. اتصالات پروتئین‌های موجود در مولکول‌های هموسیدرین در برش‌های بافتی یا اسمیر آسپیره مغز استخوان هنگام مواجهه با اسید هیدروکلریک دچار شکست شده و در نتیجه آن یون فریک (+۳) (Ferric 3+) آزاد می‌شود. این یون‌های فریک آزاد شده با پنتاسیم فروسیناید ترکیب شده تا فریک فروسیناید را که ماده رنگی به رنگ آبی روشن (آبی پروسی) و نامحلول است را تشکیل دهند. این فرآیند یکی از حساس ترین آزمایشات هیستوشیمیایی است و قابلیت تشخیص حتی یک دانه گرانول آهن را در سلول‌های خونی دارد.

محتویات کیت:

- محلول A، ۳۰ میلی لیتر
- محلول B، ۳۰ میلی لیتر
- محلول C، ۳۰ میلی لیتر

احتیاط: به دلیل خوردگی و اسیدی بودن محلول‌ها از استنشاق و تماس محلول با پوست اجتناب گردد. موارد ایمنی در نظر گرفته شود و در صورت تماس با پوست، ناحیه برخورد بلافاصله با آب فراوان شست و شو داده شود.

ثبات محلول: محلول تا ۱۲ ماه در دمای محیط پایدار است. پس از استفاده بلافاصله درب ظرف محلول‌ها را ببندید.

ایمنی:

از دستکش، عینک ایمنی و روپوش استفاده کنید. از تماس و استنشاق آن بپرهیزید.

نمونه مورد نیاز:

- گستره آسپیره مغز استخوان با تعداد پارتیکل کافی و بافت هماتوپتیک
- گستره خون محیطی دارای ضد انعقاد EDTA
- قطعات بافت حاصل از بلوک بافت پارافینه

شرایط نمونه‌گیری خارج از مرکز: نمونه‌ها می‌بایست در کمتر از ۴۸ تا ۷۲ ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شوند و مورد آزمایش قرار گیرند.

نکته ۱: گستره می‌بایست در اسلایدهای نو تهیه شود.

نکته ۲: رنگ آمیزی آهن یا رنگ آمیزی پروسین بلو می‌تواند بر روی اسلایدهایی که قبلاً توسط رنگ Romanowsky رنگ آمیزی شده‌اند و حتی سال‌ها از نگهداری آن‌ها گذشته است، استفاده شود. با این حال توصیه می‌شود که اسلایدها به مدت یک شبانه روز در متانول بمانند تا رنگ Romanowsky به طور کامل از اسلایدها زدوده شود. اسلایدها می‌بایست پیش از انجام واکنش Perl's بررسی شده و اطمینان حاصل گردد که رنگ آبی بر روی آن‌ها باقی نمانده است و در رنگ آمیزی پروسین بلو اختلال ایجاد نمی‌شود.

شرایط رد نمونه:

- مغز استخوان فاقد پارتیکل باشد.
- نمونه رقیق شده باشد.

دستورالعمل انجام آزمایش برای نمونه‌های آسپیره مغز استخوان و خون محیطی:

۱. گستره‌های تهیه شده از خون محیطی یا آسپیره مغز استخوان را با قرار دادن جریان هوا خشک کرده و توسط متانول به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه فیکس کنید.
- نکته ۱: توجه نمایند که حتماً محلول A و B یا یکدیگر مخلوط شده و سپس بر روی اسلاید ریخته شود. از ریختن جداگانه این دو محلول بر روی اسلاید خودداری نمایند.
۲. پس از خشک شدن اسلایدها، مقدار مساوی از محلول A و محلول B را با هم مخلوط نمایند. محلول حاصل از ترکیب محلول A و محلول B باید به صورت تازه تهیه و پس از استفاده دور ریخته شود.
۳. گستره‌ها را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق، در محلول آماده شده کاملاً غوطه ور نمایند.
۴. گستره‌ها را به مدت ۲۰ دقیقه زیر شیر آب بشویید (از قرار گرفتن مستقیم اسلاید در زیر شیر آب اجتناب کنید)، سپس به صورت کامل با آب دیونیزه آب کشی کنید.
۵. سپس اسلایدها را با محلول C به مدت ۱۰ تا ۱۵ ثانیه بشویند.
۶. اسلایدها را با آب مقطر بشویید (از قرار گرفتن مستقیم اسلاید در زیر شیر آب اجتناب کنید).

احتیاط: از تماس و استنشاق محلول تهیه شده اجتناب کنید.

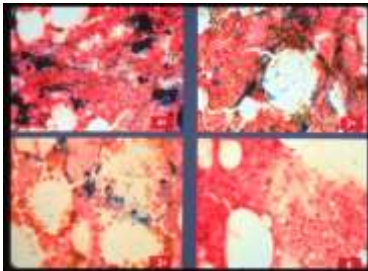
نکته ۲: برای کنترل کیفی، همیشه یک اسلاید مغز استخوان مثبت با اسلاید تست، رنگ آمیزی شود.

تداخل:

برای جلوگیری از آلودگی با آهن که ممکن است در اسلاید یا ظروف رنگ آمیزی از قبل باقی مانده باشد، ظروف را قبل از شست‌وشو در هیدروکلریک اسید (HCl ۳ مول) لیتر شناور کنید.

نتیجه:

در شکل ۱ تصویری از هسته سلولی و اریتروسیت صورتی قرمز رنگ همراه با ذخایر آهن و گرانول سیدروپتیک به رنگ آبی مشاهده می‌شود.



شکل ۱- رنگ آمیزی پروسین بلو (واکنش پرل) پارتیکل‌های آسپیره مغز استخوان به منظور تشخیص ذخایر آهن. (+۲) عادی، (۰) عدم حضور، (+۳) افزایش یافته و (+۴) شدت افزایش یافته



021-26422362



co.ap-rad.com



order@co.ap-rad.com

شرکت پژوهش و توسعه امیر یونید

ایران، تهران، خیابان شریعتی، خیابان شهید دستگردی (ظفر)، بعد از خیابان شمس تبریزی،

ساختمان بهاران، پلاک ۱۴۸، واحد ۱ / کد پستی: ۱۹۱۹۷۵۴۹۴۱



شکل ۲- سیدروبلاست حلقه ای توسط فلش در تصویر بالا نشان داده شده است.

مراحل رنگ آمیزی آهن بیوپسی مغز استخوان:

- قطعات ۲ تا ۲/۵ میکرومتری از بلوک پارافینه مغز استخوان را برش داده و بر روی لام قرار دهید.
- پارافین بلوک را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد در آون از بین ببرید.
- سپس آن را به مدت ۲ تا ۵ دقیقه به محلول گزیلول منتقل کنید.
- سپس به ترتیب نمونه را با اتانول ۱۰٪، با اتانول ۹۶٪، ۸۰٪ و در نهایت با اتانول ۷۰٪ هیدراته کنید.
- مقدار مساوی از محلول A و محلول B را با هم مخلوط نمایید. محلول حاصل از ترکیب محلول A و محلول B باید به صورت تازه تهیه و پس از استفاده دور ریخته شود.

احتیاط: از استنشاق محلول تهیه شده و تماس آن با پوست اجتناب کنید.

- سپس اسلایدها را به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق در محلول تهیه شده غوطه ور کنید.
- اسلایدها را با آب مقطر بشویید (ازقرار گرفتن مستقیم اسلاید در زیر شیر آب اجتناب کنید).
- اسلایدها را به مدت ۵ دقیقه در محلول C غوطه ور کنید.
- اسلایدها را با آب مقطر بشویید (ازقرار گرفتن مستقیم اسلاید در زیر شیر آب اجتناب کنید).
- سپس به ترتیب نمونه را با اتانول ۷۰٪، با اتانول ۸۰٪، ۹۶٪ و در نهایت با اتانول ۱۰۰٪/۱۰۰ هیدراته و تمیز کنید.

نتایج:

مطابق با جدول ذیل تفسیر می شود:

- آهن (هموسیدرین) آبی
- هسته قرمز
- زمینه گستره صورتی رنگ

تفسیر و درجه بندی ذخایر آهن موجود در بیوپسی مغز استخوان

تفسیر رنگ آمیزی پرل در بیوپسی مغز استخوان	Grade
عدم وجود گرانول های هموسیدرین	Grade 0
گرانول کوچک در هر ۳ تا ۴ HPF	Grade 1
گرانول بزرگ تر در هر ۲ تا ۳ HPF	Grade 2
گرانول در همه HPF ها در یک سلول و یا همه سلول ها	Grade 3
توده ای از گرانول های بزرگ غیر طبیعی	Grade 4

- Grade 0- کمبود آهن
- Grade 1, 2- ذخایر آهن طبیعی
- Grade 3, 4- ذخایر آهن افزایش یافته

تفسیر و طبقه بندی ذخایر آهن بر روی آسپیره مغز استخوان	نتیجه	Grade
تفسیر رنگ آمیزی	هیچ گرانول آهنی مشاهده نمی شود.	0
گرانول های کوچک در سلول های ریتیکولوم تنها با بزرگنمایی 100x قابل مشاهده می باشند.	Very slightly	1
تعداد کمی ذرات آبی رنگ کوچک با استفاده از بزرگنمایی پایین میکروسکوپ قابل مشاهده است.	Slight	2
تعداد زیادی گرانول کوچک در تمامی ذرات مغز استخوان قابل مشاهده است.	Moderate	3
گرانول های بزرگ در توده های کوچک	Moderately Heavy	4
توده فشرده بزرگ از گرانول ها	Heavy	5
انباشت بسیار بزرگ سبب ایجاد وضوح پایین در سلول های مغز استخوان می شود.	Very Heavy	6

تفسیر رنگ آمیزی پرل در آسپیره مغز استخوان

کمبود آهن	Grade 0
ذخایر آهن طبیعی	Grade 1, 2, 3
ذخایر آهن افزایش یافته	Grade 4, 5, 6

سیدروبلاست و سیدروسیت توسط واکنش پرل:

- نورموبلاست با پروسین بلو مثبت، سیدروبلاست نامیده می شوند. گرانول های آبی رنگ داخل سیتوپلاسم سیدروبلاست، در زمانی که آهن اضافی سنتز هم (Hem) در آندوزوم های سیتوپلاسمی اریتروبلاست نرمال تجمع می یابند، مشاهده می شوند.
 - سیدروبلاست حلقوی-گلبول های قرمز هسته دار پیش سازی می باشد که دارای تعداد ۵ گرانول آهن یا بیشتر بوده و بیش از یک سوم فضای سیتوپلاسمی اطراف هسته را اشغال کرده اند. در این حالت انباشت غیر طبیعی آهن در میتوکندری NRBCها در اطراف هسته به صورت حلقوی مشاهده می شود.
 - سیدروسیت - در صورتی که گرانول های آهن در گلبول های قرمز بالغ مشاهده شوند، سیدروسیت نامیده می شوند.
- انواع سیدروبلاست ها (بر اساس آخرین طبقه بندی WHO در مورفولوژی MDS)
- نوع ۱- کمتر از ۵ گرانول سیدروتیک در سیتوپلاسم
- نوع ۲- تعداد ۵ و یا بیشتر گرانول سیدروتیک در سیتوپلاسم که دارای آرایش تجمع دور هسته ای نباشد.
- نوع ۳ یا سیدروبلاست حلقه ای - تعداد ۵ گرانول آهن یا بیشتر که بیش از یک سوم فضای سیتوپلاسم اطراف هسته را به صورت آرایش حلقوی اشغال کرده اند (شکل ۲).
- *نوع ۱ و ۲ - در کم خونی غیر سیدروتیک و نوع ۳ در کم خونی سیدروبلاستیک دیده می شود.



021-26422362

co.ap-rad.com

order@co.ap-rad.com














شرکت پژوهش و توسعه امیر بیوند

ایران، تهران، خیابان شریعتی، خیابان شهید دستگردی (ظفر)، بعد از خیابان شمس تبریزی،

ساختمان بهاران، پلاک ۱۴۸، واحد ۱/ کد پستی: ۱۹۱۹۷۵۴۹۴۱

دفع ضایعات:

- برای دفع ضایعات به قوانین مصوب وزارت بهداشت توجه کنید.
- در صورتی که ضایعات منشا انسانی یا حیوانی داشته باشند به عنوان مواد خطرناک زیستی شناخته شده و باید با احتیاط دفع گردند. در هنگام استفاده و یا دفع نمونه ها از اقدامات احتیاطی عمومی استفاده کنید.

علائم و توضیحات	
	سری ساخت
	شماره رفرنس
	تاریخ تولید
	تاریخ انقضا
	مطالعه بروشور
	استفاده در موارد تشخیصی و بالینی
	استفاده در موارد تحقیقاتی
	شرایط نگهداری
	آدرس شرکت
علائم خطر	
	
	

جهت ارتباط با واحد پشتیبانی با شماره ۰۲۱-۲۶۴۲۲۹۴۰ تماس بگیرید.