

# Набор реагентов для определения гликогена в лейкоцитах

Product Categories: [Красители](#)

Product Page:

<http://ivdvlmedia.ru/shop/citoximicheskie-issledovaniya/mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/krasiteli-mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/nabor-reagentov-dlya-opredeleniya-glikogena-v-lejkocitax/>

## Product Summary

Кат.№КГЛVL ДИАХИМ-ЦИТОСТЕЙН-ПАС

Набор реагентов для выявления гликогена в клеточных элементах (кровь, костный мозг). Используется для диагностики острых лейкозов и служит маркерной реакцией для диагностики лимфолейкозов. Количество определений- 12 препаратов.Общее время окраски - 60 мин.

## Product Description

Набор реагентов для цитохимического определения гликогена в лейкоцитах

ДИАХИМ – ЦИТОСТЕЙН - ПАС

PAS- реакция является важным методом для идентификации прежде всего лимфацитарных клеточных элементов. Вместе с реакцией на миелопероксидазу и неспецифическую эстеразу, PAS- реакция является одним из основных цитохимических методов для дифференциальной диагностики острых лейкозов.

Принцип реакции:

Механизм PAS- реакции основан на окислении йодной кислотой гликолевых групп, или их amino- или алкиламино- производных до альдегидов. Альдегидные группировки при взаимодействии с реактивом Шиффа образуют продукт красного цвета.

Реагенты:

вошедшие в набор:

йодная кислота;

реактив Шиффа.

гематоксилин Майера.

Набор обеспечивает 6 исследований (от1 до 10 препаратов) .

не вошедшие в набор

фиксирующая смесь (10% спиртовой раствор формалина

дистиллированная вода.

Приготовление фиксатора (10% спиртовой раствор формалина):

1мл 40% формалина смешивают с 9 мл 96° этилового спирта. Как прозрачный, так и мутный, молокообразный раствор формалина одинаково пригоден. Полученный 10% раствор формалина хранится в холодильнике

Оборудование.

-секундомер;

-стекла предметные;

-емкости для окраски мазков(хим. стаканы, Хеллендахела, Коплина);

----микроскоп;

-пипетки

- пробирки хим.;

-бумага фильтровальная;

-цилиндры мерные

-перчатки резиновые;

вместимостью 25-500мл.

Подготовка к анализу:

Приготовление мазков крови и костного мозга.

2-3 мазка крови (или костного мозга) сделать на предметных стеклах с помощью более узкого предметного шлифованного стекла следующим образом:

На сухое предметное стекло, ближе к короткой стороне наносят пипеткой небольшую каплю крови. Предметное стекло

следует держать на столе или в левой руке за узкие края. Правой рукой приставить шлифованное стекло узким краем к стеклу с кровью слева от капли под углом 45° и продвинуть его вправо до соприкосновения с каплей крови. Выждать до тех пор, пока кровь расплывется по всему ребру шлифованного стекла, и затем легким быстрым движением провести его справа налево до тех пор, пока не будет исчерпана вся капля. Капля крови должна быть небольшой и соразмерна так, чтобы весь мазок помещался на стекле, не доходя 1 - 1,5 см до его края. Нельзя сильно нажимать на стекло, так как многие клетки крови могут оказаться поврежденными. Хорошо сделанный мазок тонок, имеет желтоватый цвет и оканчивается “метелочкой”.

После приготовления мазки следует быстро высушить на воздухе до исчезновения влажного блеска. При медленном высыхании может изменяться морфология клеток крови

Приготовление препаратов костного мозга аналогично приготовлению препаратов периферической крови.

Приготовление рабочего раствора:

-содержимое флакона с йодной кислотой растворить в 50мл дистиллированной воды

(получаем 1% раствор йодной кислоты). Раствор сохраняет свои свойства в течение 3 месяцев в темном месте.

Ход реакции:

Сухие мазки крови или к /мозга фиксировать

в 10% спирт - формалиновой смеси

10мин

Промыть проточной водой 10сек.

Поместить мазки в 1 % раствор йодной кислоты 10мин

Промыть дистиллированной водой и промокнуть

фильтровальной бумагой

10сек

Поместить мазки в реактив Шиффа 30 мин

(с помощью пинцета, осторожно! Реактив слить назад, не загрязнять!) реактив Шиффа хранится в бутылке из темного стекла, плотно закрытой, при температуре 4°C. За полчаса до употребления – вынуть из холодильника.

Промыть стекла в проточной воде 5мин

Докрасить мазки гематоксилином Майера

15мин

Промыть в проточной воде 10сек

Примечание:

Цитохимические исследования проводят в мазках крови, костного мозга, лейкоконцентрата, спинномозговой жидкости, аспиратах лимфоузлов, селезенки, лейкозных инфильтратах разной локализации.

Мазки крови и костного мозга лучше делать непосредственно из материала, полученного без добавления антикоагулянтов.

При выраженной лейкопении цитохимические исследования целесообразно проводить в препаратах, полученных из лейкоконцентрата венозной крови.

Приготовленные мазки не рекомендуется хранить более суток, т. к. активность большинства внутриклеточных ферментов снижается .

Препараты фиксируют сразу после высушивания на воздухе.

Окраску рекомендуется производить в емкости для окраски мазков ( хим. стакан, емкости Хеллендахела, емкости Коплина).

Результаты окраски: Нормальные цитохимические показатели содержания гликогена в лейкоцитах:

Для нейтрофилов-95-100% при К = 2,09-2,99.

Для лимфоцитов от 2 до 33% при К = 0,02-0,52.

Гранулы гликогена окрашиваются в красный или вишнево- красный цвет. Ядра лейкоцитов синие или фиолетовые.

В норме гликоген обнаруживается на стадии миелобласта и его содержание в клетках увеличивается по мере их созревания, достигая максимума в палочко- и сегментоядерных нейтрофилах. Гликоген выявляется также в базофилах, эозинофилах, моноцитах, тромбоцитах, и мегакариоцитах. 5- 30% нормальных лимфоцитов содержат гликоген в виде мелких гранул без диффузного фона.

Изменения при патологических состояниях:

При диагностике острых миело- и монобластных лейкозов, бластные элементы чаще всего ШИК-отрицательны, или обнаруживают слабодиффузное окрашивание цитоплазмы, иногда с наличием мелких гранул.

В тоже время лимфобласты при ОЛЛ содержат гликоген в цитоплазме в виде средних и крупных гранул, располагающихся венчиком вокруг ядра, иногда сливающихся в блоки, на неокрашенном фоне.