Набор реагентов для определения пероксидазы в лейкоцитах

Product Categories: Красители
Product Page:
http://ivdvlmedia.ru/shop/citoximicheskie-issledovaniya/mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/krasiteli-mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/nabor-reagentov-dlya-opredeleniya-peroksidazy-v-lejkocitax/

Product Summary

Кат.№КПЛVL ДИАХИМ- ЦИТОСТЕЙН- МПО
Набор реагентов для выявления миелопероксидазы в клеточных элементах (кровь, костный мозг). Используется для диагностики острых лейкозов и служит маркерной реакцией для диагностики мелолейкозов. Количество определений- 12 (от 12 до 24 препаратов). Общее время окраски - 60 мин.

Product Description

Набор реагентов для цитохимического определения пероксидазы в лейкоцитах
Пероксидазная реакция (определение активности миелопероксидазы) используется для выявления миелоидных клеточных элементов. Вместе с ШИК-реакцией и реакцией на неспецифическую эстеразу, миелопероксидаза является одним из основных цитохимических методов для дифференциальной диагностики острых лейкозов.
Принцип реакции:
Пероксидаза является ферментом - лизосомальной каталазой, катализирующей в присутствии перекиси водорода окисление различных субстратов. При окислении ортотолидина или бензидина, используемых в реакциях, образуются интенсивно окрашенные соединения, в том случае, если в клетке присутствует пероксидаза, при взаимодействии с которой перекись водорода разрушается с выделением кислорода, который и окисляет орто-толидин или бензидин, переводя их в окрашенные соединения.
Реагенты: вошедшие в набор:

Бензидин (или орто-толидин).
Перекись водорода 3%.
Краситель «Диахим- ГемиСтейн-Р» (по Романовскому).
Набор обеспечивает окраску 12 препаратов.
- не вошедшие в набор:
фиксирующая смесь (10% спиртовой раствор формалина)
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.
дистиллированная вода;
96° этиловый спирт.
Оборудование:
-секундомер; -стекла предметные;
-рельсы или емкости для окраски мазков; -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:
Растворить содержимое одного флакона бензидина (орто-толидина), в 3мл 96?этилового спирта и долить 2мл дистиллированной воды. Хорошо взболтать и перед употреблением добавить пипеткой 1 каплю 3% перекиси водорода.
Ход реакции:
Сухие мазки крови или к /мозга фиксировать
в 10% спирт - формалиновой смеси не более 15секунд!
Промыть проточной водой 10сек.
Стекла с мазками крови или костного мозга
поместить на рельсы и на них налить свежеприготовленный
рабочий раствор с только что добавленной в него
3 % перекисью водорода. Оставить на 15- 20мин
при комнатной температуре.
Промыть дистиллированной водой и промокнуть
фильтровальной бумагой 10сек.
Докрасить 0,5% раствором красителя Диахим-ГемиСтейн-Р
-профессионал (по Романовскому). 15-20мин.
Промыть стекла 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 24часов, т. к. активность большинства внутриклеточных ферментов снижается.
Нефиксированные мазки могут храниться в темноте в течение 3 недель.
Результаты окраски:
Нормальные величины:
В крови здоровых людей 3- 16% нейтрофилов окрашены резко положительно, 60-90%- положительно, остальные – слабо положительно. СЦК нейтрофилов здоровых людей равен 2,56±0,033.
Изменения при патологических состояниях
Реакция используется с целью диагностики острых лейкозов. При острых миелобластных лейкозах активность фермента в бластах варьирует от умеренной до выраженной, при острых монобластных- слабая, при острых лимфобластных – отрицательная.