Определение неспецифической эстеразы в лейкоцитах

Product Categories: Красители
Product Page:
http://ivdvlmedia.ru/shop/citoximicheskie-issledovaniya/mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/krasiteli-mikroskopiya-citoximicheskie-issledovaniya/opredelenie-nespecificheskoj-esterazy-v-lejkocitax/

Product Summary

Кат.№КЭVL ДИАХИМ- ЦИТОСТЕЙН-НЭ
Набора реагентов для цитохимического определения неспецифической эстеразы в лейкоцитах.

Product Description

Набора реагентов для цитохимического определения неспецифической эстеразы в лейкоцитах.
Эстеразные реакции с различными субстратами способствуют (облегчают) дифференциации между миелобластными и монобластными лейкозами. Кроме реакции на нафтол- AS-D-ХЛОРАЦЕТАТЭСТЕРАЗУ, надежность которой сравнима с пероксидазной реакцией, реакция на альфа- нафтилацетат эстеразу является наиболее достоверной для идентификации монобластного и моноцитарного типов лейкозов.
Принцип реакции:
Альфа-нафтилацетат эстераза ускоряет гидролизное расщепление альфа-нафтилацетата до уксусной кислты и альфа-нафтола, чье соединение с диазониевой солью образует красно-коричневое окрашивание, нерастворимое в воде.
Реагенты: вошедшие в набор:

Альфа-нафтилацетат.- 1фл.
Прочный синий «Б» - 10 фл.
Фосфатный буфер -1 фл.
NaF -1фл.
Набор обеспечивает 10исследований
не вошедшие в набор:

40°формалин.
ацетон;
дистиллированная вода;
краситель «Диахим-ЦитоСтейн-ГК» (гематоксилин Карацци).
Оборудование:
-секундомер;
-цилиндры мерные вместимостью 25-500мл;
-стаканчики химические;
-чашки Петри;
-пипетки;
-микроскоп;
-пробирки хим.;
-перчатки резиновые.
-стеклянные палочки;
-стекла предметные;
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: Приготовление маточного раствора: содержимое флакона реактива альфа-нафтилацетата растворить в 2,5мл ацетона и 2,5мл дистиллированной воды. Хранить в холодильнике до 3 месяцев.
Рабочий раствор:
Перед началом окраски в 25мл дистиллированной воды растворить 0,5мл маточного раствора альфа-нафтилацетата из холодильника. Добавить 2,5мл фосфатного буфера и 12,5 мг синего прочного «Б». Смешать.
- Ход реакции:
Зафиксировать мазки в парах формалина 10-15 мин
Быстро ополоснуть
Хорошо высушить

Погрузить мазки в рабочий раствор в чашке Петри,
перевернув стекло вниз мазком (на дно), 120мин
Поставить в холодное место (на лед или в холодильник)
Смыть проточной водой 10сек
Докрасить ядра гематоксилином Карацци 30мин
Промыть стекла в проточной воде 2мин
Высушить.
Рабочий раствор стабилен 2,5 часа. Окраска должна производится не позднее 15 минут после приготовления рабочего раствора.
Процедура окраски с фтористым натрием.
Разделить рабочий раствор на две равные части. В одну часть добавить 21 мг NaF для подавления реакции. Исследования проводят параллельно. Частичное или полное подавление реакции фтористым натрием используется для идентификации лейкозных монобластов.
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.
Используются только свежие,нативные, сухие препараты, которые должны сохнуть на воздухе не менее 30 минут.
Препараты фиксируют сразу после высушивания на воздухе.
Зафиксированные мазки могут храниться в темноте, при комнатной температуре, в течение 3 дней.
Результаты окраски: Альфа-нафтилацетат эстераза выявляется в виде красно- коричневых гранул в цитоплазме клеток.