



**ГЕМСТАНДАРТ**  
ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

### **Набор реагентов для цитохимического определения пероксидазы в лейкоцитах «ГЕМСТАНДАРТ-МПО»**

#### **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 «Гемстандарт-Р-Премиум» (по Романовскому)

Набор обеспечивает окраску 12 препаратов.

Не вошедшие в набор:

фиксирующая смесь (10% спиртовой раствор формалина)

#### **Приготовление фиксатора (10 % спиртовой раствор формалина):**

1 мл 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.

#### **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 менее 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 тонкий, 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 3 мл 96° этилового спирта и долить 2 мл дистиллированной воды. Хорошо взболтать и перед употреблением добавить пипеткой 1 каплю 3 % перекиси водорода.

**Ход реакции:**

1. Сухие мазки крови или к / мозга фиксировать в 10 % спирт — формалиновой смеси  
Время: не более 15 сек.!
2. Промыть проточной водой. Время: 10 сек.
3. 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 (не более 1-2 капель!).

**Примечание:** при наличии достаточного количества мазков окраску можно производить в ёмкости Хеллендахела (8 препаратов) или Коплина (5 препаратов). При этом необходимо приготовить рабочий раствор в количестве, достаточном для заполнения емкости.

**Время:** Оставить на 15-20 мин. при комнатной температуре.

4. Промыть дистиллированной водой и промокнуть фильтровальной бумагой  
Время: 10 сек.

5. Докрасить 0,5 % раствором красителя Гемстандарт-Р-Премиум (по Романовскому)  
Время: 15-20 мин.

6. Промыть стекла в проточной воде  
Время: 10 сек.

**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 24 часов, 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  $2,56 \pm 0,033$ .

**Изменения при патологических состояниях**

Реакция используется главным образом 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.

**Условия хранения и эксплуатации**

Хранение реагентов при t° 2-25° С в темном месте.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

**По вопросам качества *Набора для цитохимического определения пероксидазы в лейкоцитах «ГЕМСТАНДАРТ-МПО»*, следует обращаться в ООО «ГЕМСТАНДАРТ» по адресу: 196641, г. Санкт-Петербург, пос. Металлострой, промзона «Металлострой», дорога на Металластрой д.5 лит.А.**

**Тел. (812) 46-46-144, e-mail: gemstandart@mail.ru**