



**ГЕМСТАНДАРТ**  
ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

*Набора реагентов для цитохимического определения гликогена в лейкоцитах*

### **«ГЕМСТАНДАРТ-ПАС»**

PAS- реакция является важным методом для идентификации прежде всего лимфоцитарных 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:**

##### **1. вошедшие в набор:**

- йодная кислота
- реактив Шиффа
- гематоксилин Майера

Набор обеспечивает 6 исследований (от 1 до 10 препаратов)

##### **2. не вошедшие в набор:**

1. 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.

2. дистиллированная вода.

#### **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 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:**

Содержимое флакона с йодной кислотой растворить в 50 мл дистиллированной воды (получаем 1% раствор йодной кислоты). Раствор сохраняет свои свойства в течение 3 месяцев в темном месте.

### **Ход реакции:**

1. Сухие мазки крови или к/мозга фиксировать в 10 % спиртово-формалиновой смеси - 10 мин.
2. Промыть проточной водой - 10 сек.
3. Поместить мазки в 1% раствор йодной кислоты - 10 мин.
4. Промыть дистиллированной водой и промокнуть фильтровальной бумагой - 10 сек.
5. Поместить мазки в реактив Шиффа (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 - 30 мин.
6. Промыть стекла в проточной воде - 5 мин.
7. Докрасить мазки гематоксилином Майера - 15 мин.
8. Промыть в проточной воде - 10 сек.

### **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.

По вопросам качества *Набора для цитохимического определения гликогена в лейкоцитах «ГЕМСТАНДАРТ-ПАС»*, 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