



**ГЕМСТАНДАРТ**  
ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

### ***Набора реагентов для цитохимического определения хлорацетатэстеразы в лейкоцитах***

#### **«ГЕМСТАНДАРТ-ХЭ»**

Реакция на нафтол-ASD-хлорацетатэстеразу, наряду с миелопероксидазой и реакцией на липиды с суданом черным Б, является маркерной для выявления клеток миелоидной серии, особенно лейкозных миелобластов.

#### **Принцип реакции:**

Субстратом неспецифических эстераз являются эфиры карбоновых кислот. Метод основан на том, что азокраситель, образующийся при сочетании освобождающегося при гидролизе альфа-нафтола с различных стабилизированными диазотами, осаждается в месте локализации фермента в нейтральной среде.

В цитоплазме клетки определяются мелкие сине-фиолетовые гранулы.

#### **Реагенты:**

##### **1. вошедшие в набор:**

- Нафтол-ASD-хлорацетат
- Трис-буфер (рН 7,1)
- Прочный синий ББ.
- Набор обеспечивает 10 исследований

##### **2. не вошедшие в набор:**

- 10 % спирт-формалин;
- ацетон;
- дистиллированная вода;
- краситель «Гемстандарт-ГММ» (гематоксилин Майера).

#### **Оборудование:**

- термостат;
- секундомер;
- микроскоп;
- рН-метр;
- пробирки хим.;
- воронка;
- стаканчики химические
- чашки Петри;
- перчатки резиновые.
- пипетки;
- стеклянные палочки;
- стекла предметные;
- рельсы для окраски мазков;
- бумага фильтровальная.
- цилиндры мерные вместимостью 25-500 мл;

#### **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 нафтол-ASD-хлорацетата растворить в 0,1 мл ацетона, добавить 5 мл дистиллированной воды и 5 мл трис-буфера. К полученному раствору добавить 10 мг прочного синего РР. Смешать, отфильтровать. Данного количества раствора достаточно для окраски 4-5 стекол.

#### **Ход реакции:**

1. Зафиксировать мазки в 10% спирт — формалиновой смеси. Сухие мазки крови или костного мозга поместить для фиксации в ёмкость с 10% раствором формалина на этиловом спирте - 30 сек.
2. Промыть дистиллированной водой
3. Поместить в рабочий раствор при комнатной температуре - 30 мин.
4. Промыть проточной водой - 5 мин.
5. Докрасить ядра гематоксилином Майера - 15 мин.
6. Промыть стекла в проточной воде - 10 сек.
7. Высушить.

#### **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 мин. Препараты фиксируют сразу после высушивания на воздухе. Зафиксированные мазки могут храниться в темноте, при комнатной температуре, в течение 3 дней.

#### **Результаты окраски:**

Хлорацетатэстераза выявляется в виде сине-фиолетовых гранул в цитоплазме клеток гранулоцитарного ряда. В моноцитах и лимфоцитах этот фермент отсутствует.

#### **Условия хранения и эксплуатации:**

Хранение реагентов при t° от +2 до +8°С в тёмном месте.

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

**По вопросам качества *Набора для цитохимического определения хлорацетатэстеразы в лейкоцитах «ГЕМСТАНДАРТ-ХЭ»*, следует обращаться в ООО «ГЕМСТАНДАРТ» по адресу: 196641, г. Санкт-Петербург, пос. Металлострой, промзона «Металлострой», дорога на Металлострой д.5 лит.А. Тел. (812) 46-46-144, e-mail: gemstandart@mail.ru**