

Praktikum č. 2 - Kvalitativní cytologie

Zhotovení preparátu na cytopsinu

- Na podložní sklo označit preparát
- Sestavíme klip – vložíme podložní sklíčko, filtrační papír a vrchní průhlednou část klipu
- Do dyvety v připraveném klipu napipetovat 300 ul moku (když je buněk hodně, dát jen 100 ul), pokud je počet ery větší než 20000, naředit likvor 1:1 fyziologickým roztokem, vložit do rotoru a vyvážit jiným klipem

Stáčení 3 minuty při 1700 otáčkách

Stáhnout supernatant, sundat plastový nástave a stáčet 1 minutu při 1700 otáčkách

Barvení preparátu

Setem Diff-Quik (Medion Diagnostics)

Set obsahuje 3 roztoky, umožňující rychlé obarvení cytologických preparátů se zcela srovnatelným výsledkem jako při klasickém barvení dle Pappenheima

Roztok I - fixační (Fast green v metanolu)+zelenomodrý

Roztok II – barvicí roztok 1 (Eosin G v pufru)-červenooranžový

Roztok III- barvicí roztok 2 (Thiazin v pufru)-tmavomodrý

Provedení

- Sklíčko s cytologickým sedimentem ponoříme 5x na 1 vteřinu do roztoku I, přebytek barvy lehce oklepeme do buničité vaty a ze zadní stěny otřeme
- Sklíčko ponoříme 5x na 1 vteřinu do roztoku II a přebytek barvy odstraníme stejným způsobem
- Sklíčko ponoříme 4-5 x na 1 vteřinu do roztoku III a ihned opláchneme destilovanou vodou

Ještě mokrý preparát prohlédneme v mikroskopu, ujistíme se, že hustota buněk odpovídá kvantitativnímu nálezu a určíme diferenciální rozpočet leukocytů.

Preparát necháme uschnout na vzduchu – po uschnutí zakápneme imerzním olejem a provedeme hodnocení nálezu.