

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

От _____ 20 ____ г

№ _____

«Утверждаю»

Генеральный директор

ООО «НПО «АБРИС+»



М. Марковский

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КАЛА

(Диахим-Набор реагентов для клинического анализа кала)

1. Назначение

Набор предназначен для обнаружения скрытой крови, стеркобилина и билирубина в кале и приготовления препаратов для микроскопического исследования кала в клиничко-диагностических лабораториях.

Набор рассчитан на анализ 1000 проб для обнаружения скрытой крови, 50 проб – для качественного определения стеркобилина, 200 проб – для качественного определения билирубина и 2000 проб – для проведения микроскопического анализа кала.

2. Характеристика набора

2.1 Принцип метода

Определение скрытой крови

В присутствии гемоглобина крови бензидин реагирует с перекисью водорода с образованием в течение первых 2-х минут соединений, окрашенных в зеленый, сине-зеленый или синий цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству крови в кале.

Определение стеркобилина

Стеркобинин взаимодействует с уксуснокислым цинком в присутствии раствора Люголя с образованием соединений, дающих зеленую флюоресценцию.

Определение билирубина

Билирубин под действием реактива Фуше превращается в зеленый биливердин; интенсивность окраски пропорциональна количеству билирубина в кале.

2.2 Состав набора:

- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| • Бензидин | – 1 флакон (1,0 г). |
| • Кислота уксусная, 50% раствор | – 1 флакон (100 мл). |
| • Гидроперит, таблетки | – 1 упаковка (6 шт). |

- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| • Цинк уксуснокислый | – 1 флакон (100 мл). |
| • Раствор Люголя | – 1 флакон (50 мл). |
| • Реактив Фуше | – 1 флакон (100 мл). |
| • Кислота уксусная, 30% раствор | – 1 флакон (100 мл). |
| • Судан III, 2 % раствор | – 1 флакон (100 мл). |
| • Метиленовый синий, 2% раствор | – 1 флакон (20 мл). |
| • Глицерин | – 1 флакон (130 г). |

3. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

В состав набора входят бензидин, уксусная и трихлоруксусная кислоты, судан III, метиленовый синий. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение "Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР" (Москва, 1981 г.)

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

Все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ-287-113.

4. Оборудование, материалы и реагенты:

- Флакон из темного стекла вместимостью 10 мл;
- пипетка, позволяющая отбирать 5,0 мл;
- колбы конические с притертой пробкой вместимостью 100 мл;
- колба мерная вместимостью 200 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- кювета эмалированная или белая керамическая плитка;
- пипетки глазные;
- палочки стеклянные;
- стекла предметные;
- стекла покровные;
- пробирки химические стеклянные вместимостью 10 мл;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- воронки химические;
- ступка фарфоровая с пестиком;
- пробирки центрифужные;
- микроскоп;
- секундомер;
- спиртовка;
- вода дистиллированная;
- раствор натрия хлористого 154 ммоль/л;
- перчатки резиновые или пластиковые.



5. Анализируемые образцы

Кал, эмульсия кала

Приготовление эмульсии кала (при плотной или неоднородной консистенции каловых масс)

Кусочек кала помещают в фарфоровую ступку и растирают в небольшом количестве дистиллированной воды или раствора хлорида натрия 154 ммоль/л до консистенции жидкой кашицы. Можно воспользоваться центрифужной пробиркой и стеклянной палочкой.

6. Проведение анализа

6.1 Подготовка реагентов для анализа

Приготовление раствора бензидина

Около 0,05 г бензидина (количество, сопоставимое по размерам с крупной горошиной) внести во флакон из темного стекла вместимостью 10 мл, добавить 5,0 мл 50% раствора уксусной кислоты и тщательно перемешать до полного растворения.

Раствор бензидина готовят непосредственно перед применением; хранению не подлежит.

Приготовление 3% раствора перекиси водорода

В колбу коническую вместимостью 100 мл внести 4,5 г гидроперита (3 таблетки), добавить 50 мл дистиллированной воды, и тщательно перемешать до полного растворения. Раствор перекиси водорода можно хранить при температуре (2-8)°C в защищенном от света месте не более 3 месяцев.

Цинк уксуснокислый, 100 г/л

Готов к применению. Перед применением взболтать.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре (18-25)°C в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

Приготовление рабочего раствора Люголя

Раствор Люголя разбавить водой дистиллированной в соотношении 1:1.

Рабочий раствор Люголя можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте не более 6 месяцев.

Реактив Фуше

Готов к применению. Перед применением взболтать.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

Судан III, 2 % раствор

Готов к применению.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

Приготовление 0,5% раствора метиленового синего

2 % раствор метиленового синего разбавить дистиллированной водой в соотношении 1:3.

0,5 % раствор метиленового синего можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.



Глицерин

Готов к применению.

После вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре (18-25)°C в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

6.2 Проведение анализа**Определение скрытой крови**

Кал стеклянной палочкой нанести в виде мазка на предметное стекло (или взять 2-3 капли эмульсии кала). Стекло с нанесенным материалом поместить в белую эмалированную кювету или на белую керамическую плитку.

К препарату добавить 2-3 капли раствора бензидина и 2-3 капли 3% раствора перекиси водорода и перемешать стеклянной палочкой. Появление зеленого, сине-зеленого или синего окрашивания в течение первых 2 минут после смешивания реагентов указывает на наличие в кале крови (положительная реакция). Появление окраски в более позднее время не учитывается (отрицательная реакция).

Определение стеркобилина

Эмульсию кала внести в пробирку в количестве 1,0-2,0 мл, добавить равное количество (предварительно взболтанного) спиртового раствора уксуснокислого цинка и 1 каплю рабочего раствора Люголя.

Полученную смесь профильтровать в стеклянную пробирку. При наличии стеркобилина (положительная реакция) фильтрат дает зеленую флюоресценцию, которая видна на темном фоне.

Определение билирубина

Эмульсию кала налить по 1,0-2 мл в 2 пробирки (опыт и контроль). В опытную пробирку добавить по каплям реактив Фуше (объем добавляемого реактива не должен быть больше объема эмульсии кала). В присутствии билирубина появляется зеленое или зеленоватое окрашивание (положительная реакция).

Примечание. При проведении анализа обе пробирки держать в руке. Сравнивать окраску в опытной пробирке с контрольной в проходящем свете.

Микроскопическое исследование

Для микроскопического исследования кала готовят 6 препаратов:

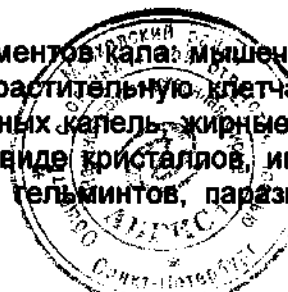
- нативный неокрашенный препарат;
- препарат с суданом III;
- препарат с метиленовым синим;
- препарат с 30% раствором уксусной кислоты;
- препарат с раствором Люголя;
- препарат с глицерином.

При приготовлении каждого из них на предметное стекло стеклянной палочкой наносят 1-2 капли эмульсии кала или жидкой каловой массы, в препараты 2-6 вносят 1-2 капли соответствующего реактива. При этом каплю эмульсии краем покровного стекла смешивают с каплей реактива, затем покрывают покровным стеклом и рассматривают сначала под малым (8х10), а затем под большим (40х10) увеличением.

При неоднородности каловых масс препараты следует готовить из макроскопически видимых плотных частиц и из жидкой части.

Нативный неокрашенный препарат

В нативном препарате можно обнаружить большинство элементов кала: мышечные волокна (переваренные, непереваренные и слабопереваренные), растительную клетчатку (переваримую и непереваримую) нейтральный жир в виде бесцветных капель, жирные кислоты в виде капель, игольчатых кристаллов и глыбок, мыла – в виде кристаллов, игл и глыбок, лейкоциты, эритроциты, кишечный эпителий, слизь, яйца гельминтов, паразити-



рующие в кишечнике простейшие, микроорганизмы, кристаллы. Для получения достоверного результата исследования при обнаружении в нативном неокрашенном препарате любых видов жиров и яиц гельминтов необходимы дополнительные исследования.

Препарат с суданом III

Под воздействием судана III капли нейтральных жиров и капли жирных кислот окрашиваются в красный или оранжевый цвет, а кристаллы и глыбки жирных кислот и мыла не окрашиваются. Для дифференцирования капель нейтрального жира от капель жирных кислот проводят окраску с раствором метиленового синего.

Препарат с метиленовым синим

Раствор метиленового синего 0,5 % окрашивает капли жирных кислот в синий или голубой цвет, капли нейтрального жира не окрашиваются.

Проба с нагреванием

Дифференцирует жирные кислоты от мыл. Нативный неокрашенный препарат подогревают (не доводя до кипения) и тотчас микроскопируют. Кристаллы и глыбки жирных кислот сплавляются в капли (вновь переходящие в глыбки при охлаждении), глыбки и кристаллы мыл в капли не сплавляются. Для постановки пробы может быть также использован препарат с метиленовым синим.

Препарат с 30 % раствором уксусной кислоты

Глыбки и кристаллы мыл сплавляются в капли после нагрева (до кипения) препарата с уксусной кислотой. Уксусная кислота расщепляет мыла и освобождает жирные кислоты, которые плавятся, образуя капли.

Препарат с раствором Люголя

Раствор Люголя помогает обнаружить крахмал, расположенный внутри- и внеклеточно на разных стадиях переваривания (иссиня-черный, фиолетовый, красно-бурый). Йодофильная флора нормальная и патологическая окрашивается йодом в черный или коричневый цвет за счет содержащейся внутриклеточно гранулезы, цисты простейших окрашиваются в желтый цвет и в крупных формах хорошо видны ядра, более четко видны яйца гельминтов.

Препарат с глицерином

Глицерин очищает от бактерий и калового детрита яйца гельминтов, "просветляет" препарат и помогает установить принадлежность обнаруженных яиц. При обнаружении яиц гельминтов необходимо проведение специального гельминтологического исследования.

7. Регистрация результатов

Микроскопию нативных препаратов провести при малом (объектив 8×, окуляр 10×) и большом (объектив 40×, окуляр 10×) увеличении микроскопа.

Микроскопирование окрашенных препаратов провести с иммерсионной системой (объектив 90×, окуляр 10×).

8. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (18-25)° С в течение всего срока годности.

Срок годности - 1 год.

Компоненты набора после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытых флаконах в течение срока годности набора.

Раствор бензидина готовят непосредственно перед применением; хранению не подлежит.

Раствор перекиси водорода можно хранить при температуре (2-8)°С в защищенном от света месте не более 3 месяцев.

Рабочий раствор Люголя можно хранить при комнатной температуре (18-25) °С в защищенном от света месте не более 6 месяцев.

По вопросам, касающимся качества набора ДИАХИМ-НАБОР ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КАПА, следует обращаться в ООО «НПФ АБРИС+» по адресу: 196135, г. Санкт-Петербург, а/я 355; 196143, С.Петербург, пр. Гагарина, 65; тел./факс: (812) 727-24-40, 727-88-18; e-mail: abris@abrisplus.ru; <http://www.abrisplus.ru>. и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А. Тел: (499) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по производству
ООО НПФ «АБРИС+»



С.Н. Горностаев

«СОГЛАСОВАНО»

зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГОУ ДПО «РМАПО Росздрав



д.м.н., профессор Долгов В.В.

5 декабря 2009 г.

