

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

От _____ 20__ г

№ _____

«Утверждаю»

Генеральный директор
ООО НПФ «АБРИС+»

В.М. Марковский



09 _____ 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЦИТОХИМИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СИДЕРОБЛАСТОВ И СИДЕРОЦИТОВ В ЛЕЙКОЦИТАХ (ДИАХИМ-ЦИТОСТЕЙН-С)

1. Назначение

Набор предназначен для цитохимического определения сидеробластов и сидероцитов в клетках эритроидного ряда в клинко-диагностических лабораториях лечебно - профилактических учреждений.

Сидеробласты и сидероциты - это нормобласты (эритробласты) и эритроциты, содержащие в цитоплазме негемоглобиновое 2х, 3х валентное железо в виде гранул, окрашиваемых в реакции с берлинской лазурью. Если гранулы свободного железа многочисленные, грубые и располагаются вокруг ядра, образуя кольцо, то такие клетки называются «кольцевидными сидеробластами».

2. Характеристика набора

2.1. Принцип метода

Использование реакции с берлинской лазурью, основанное на образовании ферриферроцианида при взаимодействии ионов трехвалентного железа с ферроцианидом в кислой среде. Реакция проявляется в виде образования синего осадка ферриферроцианида.

2.2. Состав набора

- Реактив для фиксации мазков - 1 флакон (100 мл)
- Раствор желтой кровяной соли (20%) - 3 флакона (по 10 мл)
- Раствор хлористоводородной кислоты - 1 флакон (8,2 мл)
- Раствор сафранина (0,1%) - 1 флакон (100 мл)

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Исследования проводят в мазках крови, костного мозга.

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.

Истощение запасов железа происходит при железодефицитной анемии и сопровождается снижением количества сидеробластов. Избыточное накопление наблюдается при идиопатическом и приобретенном гемохроматозе, хронической гемолитической анемии, талассемии и МДС, что приводит к увеличению числа сидеробластов. При диагностике МДС отличительным признаком РАКС (рефрактерной анемии с кольцевидными сидеробластами) является присутствие в костном мозге более 15 % кольцевидных сидеробластов. Выявленные гранулы синего цвета.

4. Меры предосторожности при работе с набором.

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания реагентов 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, противоэпидемического 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.

5. Оборудование, материалы, реагенты:

- штатив для просушивания окрашенных стёкол на воздухе в вертикальном или наклонном положении;
- штатив («рельсы») для окраски мазков на предметных стёклах;
- емкости для фиксации и окраски;
- пинцет или щипцы для взятия предметных стёкол с препаратами;
- стёкла предметные;
- микроскоп;
- термостат
- таймер;
- чашки Петри
- бумага фильтровальная;
- вода дистиллированная;
- масло иммерсионное;
- перчатки резиновые или пластиковые

6. Анализируемые пробы

Мазки крови и костного мозга.

Материал должен быть свежесобраным. Срок хранения не более 2 часов.

Препараты, приготовленные из исследуемого материала, могут храниться 3 - 5 дней при комнатной температуре.

7. Проведение анализа

7.1 Подготовка к анализу

7.1.1 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 тонок, 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.

7.2. Приготовление рабочих растворов реагентов

Реактив для фиксации мазков и раствор сафранина готовы к применению.

Раствор желтой кровяной соли – содержимое флакона развести дистиллированной водой в 4 раза (добавить 30 мл дистиллированной воды)

Раствор хлористоводородной кислоты - содержимое флакона довести до 200 мл (полученный раствор имеет концентрацию 0,5 N HCl)

Реагенты можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытых флаконах, в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

7.3. Проведение анализа

7.3.1. Фиксация мазков

Приготовленные препараты положить на лотки, выстланные фильтровальной бумагой, и высушить при комнатной температуре в течение 15 – 20 минут.

Высушенный на воздухе препарат зафиксировать в Реактиве для фиксации мазков в течение 5-10 минут, после чего высушить на воздухе.

7.3.2. Окраска препаратов

Приготовить рабочий раствор из равных частей рабочих растворов желтой кровяной соли и хлористоводородной кислоты и поместить туда зафиксированные препараты крови или костного мозга на 15- 20 минут при температуре $50-56^\circ\text{C}$.

Промыть проточной водой в течение 10 минут, после чего ополоснуть дистиллированной водой. Поместить мазки в раствор сафранина на 10-15 секунд.

Промыть стекла в проточной воде 10 секунд.

Высушить окрашенный препарат на воздухе при комнатной температуре в вертикальном или наклонном положении.

Микроскопировать с иммерсионной системой.

8. Результаты окраски:

Гранулы железа синего цвета.

9. Условия хранения и эксплуатации.

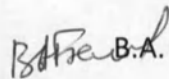
Хранение реагентов при $t^{\circ} 2-8^{\circ} \text{C}$ в темном месте.

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

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

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А. Тел: (495) 120-60-95, 120-60-96.

Ведущий врач-гематолог
НИИ Гематологии и трансфузиологии,
к.м.н

 В.А. Балашова

Директор по производству
ООО НПФ «АБРИС+»

 С.Н. Горностаев

«СОГЛАСОВАНО»
Зав. кафедрой клинической
лабораторной диагностики
ГБОУ ДПО РМАПО
Минздравсоцразвития России,
д.м.н., профессор


 В.В. Долгов
21.11.12

Прошито и пронумеровано
4 (четыре) лист 9
Генеральный директор
ООО «НПО «АБРИС+»
В.М. Марковский

