

УТВЕРЖДЕНА

"УТВЕРЖДАЮ"

Приказом Росздравнадзора

Директор

От _____ 200 г. № _____

ООО "Агат-Мед"

Н.Н.Контуганов

2008 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для тимоловой пробы

"Тимоловая проба – Агат"

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для определения устойчивости белков в сыворотке и плазме крови при диагностике заболеваний печени в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор рассчитан на проведение 500 определений при расходе 3,0 мл рабочего раствора на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Сывороточные бета-глобулины, гамма-глобулины и липопротеины осаждаются тимолом в трис-малеатном буфере при pH 7,55. Интенсивность помутнения, которая зависит от количества и взаимного соотношения отдельных белковых фракций, измеряется турбодиметрически при длине волны 650 (630-690) нм.

Результаты измерений выражаются в единицах помутнения по Shank-Hoagland (ед. S-H). Калибровка осуществляется по суспензии сульфата бария.

Инструкция составлена: к.б.н. Смирновым И.В. – зав.лабораторией Гематологического научного центра РАМН, Гладуном В.В. – научным сотрудником ООО "Агат-Мед".

СОСТАВ НАБОРА

1. Концентрат раствора тимолола в трис-малеатном буфере, 11 мл, - 3 флакона.
2. Раствор серной кислоты (2,5 моль/л), 10 мл - 1 флакон.

Подпись

43

2

3. Раствор хлорида бария (48 ммоль/л), 5 мл - 1 флакон.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Диапазон измерений - до 20 ед. S-H.

Чувствительность определения - не более 2 ед. S-H.

Воспроизводимость: коэффициент вариации не более 10%.

Нормальные величины : 0 - 4 ед. S-H.

Патология: свыше 5 ед. S-H.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон нормальных величин у обследуемого контингента.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с данным набором необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендуемые при работе с кровью в соответствии с "Инструкцией по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебных и профилактических учреждений", утвержденной Минздравом СССР от 17.01.91 г., и "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР".

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Раствор серной кислоты содержит серную кислоту - едкое вещество. При приготовлении рабочего раствора серной кислоты 0,1 моль/л следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки. В случае попадания раствора на кожу и слизистые необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. Пипетирование *per os* категорически запрещается. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Раствор хлорида бария (48 ммоль/л) содержит ядовитое вещество - хлорид бария, но его концентрация низкая, поэтому реагент не считают ядовитым. Все остальные компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр, длина волны 630 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 620 - 660 нм (красный светофильтр), кювета с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм или 5 мм;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 1,50мл, 3,0мл, 4,5мл, 6,0мл и 10,0мл;
- колбы мерные вместимостью 50, 250 и 500 мл;
- пробирки вместимостью 10 мл;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка или плазма крови.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

Тимоловый реактив. В мерную колбу вместимостью 500 мл налить около 450 мл дистиллированной воды и, при постоянном перемешивании, пипеткой постепенно прилить 10 мл концентрата раствора тимола. Носик пипетки должен быть погружен в воду в колбе. Раствор довести дистиллированной водой до метки и перемешивать еще 10 минут до полного растворения.

Раствор серной кислоты 0,1 моль/л. В мерную колбу вместимостью 250 мл количественно перенести содержимое флакона с раствором серной кислоты (2,5 моль/л), долить охлажденной до +8 °С дистиллированной водой до метки и перемешивать.

Калибровочная суспензия сульфата бария. В мерную колбу вместимостью 50 мл пипеткой внести 1,5 мл раствора хлорида бария (48 ммоль/л) и довести до метки рабочим раствором серной кислоты, охлажденным точно до 10 °С. Содержимое колбы тщательно перемешать. Калибровочную суспензию сульфата бария готовить перед употреблением.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

В пробирку внести 3 мл тимолового реактива, прилить 0,05 мл сыворотки (плазмы), тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (+18-25° C). Непосредственно перед измерением содержимое пробирки еще раз перемешать и измерить величину оптической плотности пробы при длине волны 650 (630-690) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм против холостой пробы (тимолового реактива).

Величину интенсивности помутнения определить по калибровочному графику.

ПОСТРОЕНИЕ КАЛИБРОВОЧНОГО ГРАФИКА

Для построения калибровочного графика внести в пробирки раствор серной кислоты и калибровочную суспензию сульфата бария в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1.

№ пробирки	Раствор серной кислоты 0,1 моль/л мл	Калибровочная суспензия сульфата бария, мл	Единицы помутнения S-H
1	4,50	1,50	5
2	3,00	3,00	10
3	1,50	4,50	15
4	—	6,00	20

Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре (+18-25° C). Непосредственно перед измерением содержимое пробирок еще раз перемешать и измерить величины оптической плотности пробы при длине волны 650 (630-690) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм против холостой пробы (раствора серной кислоты 0,1 моль/л).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Росмед

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2 - 8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 суток.

Срок годности набора – 2 года.

Тимоловый реактив можно хранить при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) в плотно укупоренном виде не более 2 месяцев. Приготовленный рабочий раствор серной кислоты 0,1 моль/л и Раствор хлорида бария (48 ммоль/л) после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре ($+18 - 25^{\circ}\text{C}$) в плотно укупоренном виде не более 6 месяцев. Калибровочная суспензия сульфата бария хранению не подлежит.

Тимоловый реактив использовать при температуре не ниже $+18^{\circ}\text{C}$.

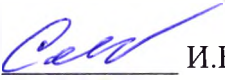
Для приготовления тимолового реактива и для проведения пробы необходимо использовать чистую посуду без следов синтетических моющих средств, так как они препятствуют развитию преципитата.

При получении значений интенсивности помутнения выше 20 единиц S-H, анализируемый образец необходимо развести 9 г/л раствором хлорида натрия в соотношении 1:1, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

Если используется липемическая (изначально мутная) сыворотка, то в качестве контрольной (холостой) используют пробу, содержащую 0,05 мл сыворотки и 3 мл 9 г/л раствора хлорида натрия.

По вопросам, касающимся приобретения наборов и их качества, просим обращаться по адресу: 105173, г. Москва, ул. Западная, д. 2, стр. 1, ООО "Агат-Мед".

Телефон для справок: (495) 777-41-92.

Зав.лабораторией ГНЦ РАМН к.б.н.  И.В. Смирнов

Научн. сотр. ООО "Агат-Мед"  В.В. Гладун.

«СОГЛАСОВАННО»

Директор ФГУ «ГНЦД Росмедтехнологий»

Академик РАМН

Профессор А.А. Кубанова



