



**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**  
**НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОКРАСКИ ГИНЕКОЛОГИЧЕСКИХ МАЗКОВ ПО ПАПАНИКОЛАУ**  
**«МЛТ-ПАП-ДИФФ» ПО ТУ 21.20.23-001-23475651-2017**

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Набор реагентов для окраски гинекологических мазков по Папаниколау «МЛТ-ПАП-ДИФФ» по ТУ 21.20.23-001-23475651-2017 предназначен для окрашивания гинекологических мазков (соскобы из цервикального канала и/или шейки матки) по Папаниколау ручным методом или с использованием автоматов.

Функциональное назначение набора – вспомогательное средство при скрининге морфологических особенностей (изменений) в гинекологических препаратах. Только для *in vitro* диагностики.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика, научные исследования.

Набор предназначен для использования медицинским персоналом и сотрудниками лабораторий, прошедших соответствующее профессиональное обучение или подготовку.

**ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт качества.

**Состав набора**

| Комплектация   | Компоненты (состав) набора                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Комплектация 1 | 1. Краска гематоксилин по Гиллу-2 (Папаниколау-1) – 1 флакон 1000 мл;<br>2. Краска ОГ (Папаниколау-2) – 1 флакон 1000 мл;<br>3. Краска ЕА (Папаниколау-3) – 1 флакон 1000 мл;                                                                                                                                                                                                          |
| Комплектация 2 | 1. Краска гематоксилин по Гиллу-2 (Папаниколау-1) – 1 флакон 1000 мл;<br>2. Концентрат краски ОГ (Папаниколау-2) – 1 флакон 190 мл;<br>3. Концентрат краски ЕА (Папаниколау-3) – 1 флакон 260 мл;                                                                                                                                                                                      |
| Комплектация 3 | 1. Краска гематоксилин по Гиллу-2 (Папаниколау-1) – 1 флакон 1000 мл;<br>2. Краска ОГ (Папаниколау-2) – 1 флакон 1000 мл;<br>3. Краска ЕА (Папаниколау-3) – 1 флакон 1000 мл;<br>4. Раствор для дегидратации – 3 флакона по 1000 мл;<br>5. Просветляющий раствор – 1 флакон 1000 мл;<br>6. Фиксатор-спрей – 2 флакона 100 мл;<br>7. Монтирующая (закрывающая) среда – 1 флакон 100 мл; |

Инструкция распространяется на все комплектации набора.

Концентраты из комплектации 2 рассчитаны на приготовление 1л рабочего раствора краски ОГ (Папаниколау-2) и 1л рабочего раствора краски ЕА (Папаниколау-3), соответственно.

**Число исследуемых проб биологического материала:** 1000 шт. препаратов (при расходе 1 мл каждой краски на одно стекло).

**Принцип метода**

Благодаря влажной фиксации мазка, с использованием фиксатора-спрея или проводимой в этиловом спирте, хорошо сохраняются ядра, клеточная мембрана и структура хроматина. При окраске по Папаниколау последовательно применяются краски: гематоксилин для окраски ядер, краски ОГ и ЕА для окраски цитоплазмы. При обработке мазка в краске ОГ происходит окраска кератинизированных элементов красителем – оранжевым Ж. При обработке мазка в краске ЕА происходит сначала быстрая окраска цитоплазмы эозином, затем часть клеток перекрашивается в результате действия красителя светло-зеленого SF и протравы – фосфорно-вольфрамовой кислоты. Для удаления остатков воды перед просветлением применяется раствор для дегидратации или изопропиловый спирт. Для придания окрашиваемому препарату необходимую для микроскопирования прозрачность проводится обработка в просветляющем растворе или в ксилоле. Для оптимизации получения изображения окрашенного препарата с помощью микроскопа препараты заключают под покрывное стекло с использованием монтирующей (закрывающей среды) или бальзама.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор реагентов предназначен для диагностики *in vitro*. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

При работе с реагентами следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые. При попадании на кожу промыть место контакта большим количеством проточной воды с мылом, при попадании на слизистую промыть большим количеством проточной воды. При проглатывании следует прополоскать рот и выпить большое количество воды, не вызывать рвоту, пострадавшему должна быть оказана квалифицированная медицинская помощь.

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, 1981г).

В состав реагентов входят легковоспламеняющиеся жидкости, выделяющие при работе пожароопасные пары. Работа с реагентами должна проводиться с использованием приточно-вытяжной вентиляции, вдали от огня и источников искрообразования.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологического материала человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции. Химическая посуда и оборудование, используемые при работе, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

### Предупреждающая и информационная маркировка

| Символ                                                                              | Описание                                                                                                                   | Символ                                                                              | Описание                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|    | Осторожно!<br>Воспламеняющаяся<br>жидкость.<br>Пары образуют с воздухом<br>взрывоопасные смеси                             |    | Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> |
|                                                                                     |                                                                                                                            |    | Обратитесь к инструкции<br>по применению            |
|  | Опасно!<br>При вдыхании может<br>вызвать<br>аллергическую реакцию<br>(астму или затруднение<br>дыхания)                    |  | Изготовитель                                        |
|                                                                                     |                                                                                                                            |  | Номер серии                                         |
|  | Осторожно!<br>Вредно при проглатывании,<br>при попадании на кожу<br>может вызывать<br>раздражение, вредно при<br>вдыхании. |  | Дата изготовления                                   |
|                                                                                     |                                                                                                                            |  | Использовать до                                     |
|                                                                                     |                                                                                                                            |  | Температурный диапазон хранения                     |
|                                                                                     |                                                                                                                            |  | Содержимого достаточно для окраски п<br>препаратов  |

### ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- вода дистиллированная ГОСТ 6709
- вода питьевая (водопроводная)
- стекла покровные ГОСТ 6672
- пипетки вместимостью 1 мл
- емкость для окраски препаратов
- мерная емкость вместимостью 1000 мл
- масло иммерсионное
- фильтровальная бумага
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые
- микроскоп лабораторный
- секундомер или автомат окраски

Для комплектаций 1,2 необходимы дополнительные материалы:

спирт этиловый ректификованный 96%, спирт изопропиловый ГОСТ 9805, ксилол ГОСТ 9410, бальзам;



## ИССЛЕДУЕМЫЕ ПРОБЫ

### Вид исследуемого биологического материала

Исследуемый материал: гинекологические мазки (соскобы из цервикального канала и/или шейки матки)

### Процедура получения исследуемого биологического материала

Подготовка к исследованию и забор гинекологических мазков должен проводиться квалифицированным медицинским персоналом в соответствии с применяемыми в КДЛ нормативными актами ГОСТ Р 57005.

Соскоб с поверхности шейки матки и/или из цервикального канала, взятый специальными щетками или шпателями, наносится на предметное стекло и фиксируется методом влажной фиксации.

### Фиксация с помощью фиксатора-спрея

Сразу после нанесения материала на предметное стекло равномерно распылить фиксатор на препарат с расстояния 15-20 см, оставить на воздухе до испарения спирта. Предметное стекло во время фиксации и испарения спирта должно находиться в горизонтальном положении. Окраску зафиксированного препарата производить не раньше 15 мин с момента фиксации.

### Фиксация с помощью 96<sup>0</sup> этилового спирта

Нанесенный материал на предметное стекло сразу поместить стекло в этиловый спирт на 10-15 минут. По истечении времени оставить препарат на воздухе до испарения спирта.

### Условия хранения биологического материала

Для зафиксированных препаратов допускается хранение при температуре +2-8°C в течение 10 суток.

### Ограничения по использованию биологического материала:

Препараты должны быть тонкими, однослойными и приготовлены на обезжиренных стеклах, зафиксированы методом влажной фиксации.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РАСТВОРОВ

Реагенты комплектаций 1 и 3 готовы к проведению анализа.

### **Приготовление рабочих растворов комплектации 2:**

Приготовление рабочего раствора OG (Папаниколау-2) из концентрата:

В потребительскую тару с концентратом OG (Папаниколау-2) налить **810** изопропилового спирта. Смешать взбалтыванием до растворения осадка. Реагент готов к проведению анализа сразу после разведения.

Приготовление рабочего раствора ЕА (Папаниколау-3) из концентрата:

В потребительскую тару с концентратом ЕА (Папаниколау-3) налить **740** мл изопропилового спирта. Смешать взбалтыванием до растворения осадка. Реагент готов к проведению анализа сразу после разведения.

## ПРОВЕДЕНИЕ ОКРАСКИ

Методика окрашивания по Папаниколау предполагает последовательную обработку препаратов на предметных стеклах в красках и других технологических жидкостях.

1. Фиксированный препарат промыть в сосуде с водопроводной водой в течение **30 с**. Затем удалить избыток водопроводной воды, поставив стекло вертикально на фильтровальную бумагу.
2. Погрузить препарат в сосуд с дистиллированной водой **на 5 с**.
3. Погрузить препарат в сосуд с рабочим раствором гематоксилина по Гиллу-2 (Папаниколау-1) **на 3 мин** для окрашивания.
4. Погрузить препарат в сосуд с водопроводной водой **на 2 мин** для отсинивания. Затем промакнуть нижнее ребро стекла о фильтровальную бумагу, чтобы устранить избыток водопроводной воды.
5. Погрузить препарат в сосуд с рабочим раствором краски OG (Папаниколау-2) **на 15 с** для окрашивания. Вынув, промакнуть нижнее ребро стекла о фильтровальную бумагу, чтобы устранить избыток краски.
6. Препарат промыть в первом сосуде с раствором для дегидратации (изопропиловым спиртом), погрузив **на 10 с**.
7. Погрузить препарат в сосуд с рабочим раствором краски ЕА (Папаниколау-3) **на 3 мин** для окрашивания.
8. Промыть препарат в сосуде с чистой водопроводной водой **2 с**. Затем промакнуть нижнее ребро стекла о фильтровальную бумагу, чтобы устранить избыток водопроводной воды.
9. Препарат промыть в первом сосуде с раствором для дегидратации (изопропиловым спиртом), погрузив **на 10 с**.  
Вынув, промакнуть нижнее ребро стекла о фильтровальную бумагу, чтобы устранить избыток раствора.
10. Промыть препарат во втором сосуде с раствором для дегидратации (изопропиловым спиртом), погрузив **на 10с**.
11. Промыть препарат в третьем сосуде с раствором для дегидратации (изопропиловым спиртом), погрузив **на 10с**.
12. Поместить препарат в сосуд с просветляющим раствором (ксилолом) **на 10с** для просветления.

Не допуская высыхания препарата, нанести на препарат **100 мкл** монтирующей (закрывающей) среды (бальзама), накрыть покровным стеклом.

При отсутствии видимых дефектов (пузырьков воздуха, крупных частиц) на окрашенном и зафиксированном препарате к микрокопированию можно приступить через 5 мин после нанесения закрывающей среды.

Для обеспечения повторяемости и получения высококачественных окрашенных препаратов, рекомендуется выполнять методику с использованием автоматов окраски. Программирование методики окраски осуществляется согласно руководству по эксплуатации автомата.

#### Рекомендации:

1. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.
2. Для получения наилучшего качества окраски, по результатам первого применения рекомендуется провести корректировку времени выдержки в красках:
  - интенсивность окрашивания ядер регулируется изменением времени выдержки в растворе гематоксилина по Гиллу-2 (Папаниколау-1) в диапазоне от 1 до 4 мин.
  - интенсивность окрашивания цитоплазмы регулируется изменением времени выдержки в растворах краски ОГ (Папаниколау-2) и краски ЕА (Папаниколау-3) в диапазоне от 15 сек до 2 мин и от 2 до 8 мин, соответственно.
3. В ходе окрашивания используются несколько емкостей с раствором для дегидратации. Для получения качественных препаратов следует контролировать, чтобы дегидратирующий раствор, предшествующий просветляющему раствору, был чистым (не загрязненным краской). Для оптимизации расхода раствора для дегидратации по мере загрязнения последней ванны рекомендуется слить отработанный раствор из первой ванны, переставить на это место вторую ванну, на место второй – третью, в последнюю ванну залить чистый раствор для дегидратации.
4. Для качественной обработки препаратов уровень красок гематоксилина по Гиллу-2 (Папаниколау-1), ОГ (Папаниколау-2) и ЕА (Папаниколау-3) в ваннах должен быть одинаковым и покрывать погруженный препарат. Уровень остальных технологических сред должен быть выше уровня красок.
5. Допускается выпадение незначительного осадка в красках гематоксилина по Гиллу-2 (Папаниколау-1), ОГ (Папаниколау-2) и ЕА (Папаниколау-3) и концентратах ОГ (Папаниколау-2) и ЕА (Папаниколау-3). Для устранения осадка нужно тщательно размешать реагент перед наполнением им ванн.
6. Для комплектаций 1,2 необходимы дополнительные материалы:
  - комплектация **1 и 2**: спирт этиловый ректификованный 96%, спирт изопропиловый ГОСТ 9805, ксилол ГОСТ 9410, бальзам;
  - комплектация **2** дополнительно необходимы: спирт изопропиловый ГОСТ 9805 для приготовления красок ОГ (Папаниколау-2) и ЕА (Папаниколау-3) из концентратов.
7. Во время окрашивания нельзя допускать высыхания препаратов.
8. Допускается фиксация препаратов 10-15 мин в спирте этиловом ректификованном 96%.
9. Допускается ополаскивания в 0,5% растворе уксусной кислоты перед окраской в гематоксине для поддержания кислой среды гематоксилина, что сохраняет его красящие свойства.
10. При применении автоматов окраски, фильтровальная бумага, с помощью которой удаляются избытки технологических жидкостей с предметных стёкол, размещается на дне ванны. Использование фильтровальной бумаги препятствует перекрестному загрязнению рабочих растворов, что увеличивает их срок службы.
11. При длительных интервалах между циклами окраски рекомендуется закрывать емкости крышками для предотвращения испарения.
12. Не допускается применение реагентов из наборов разных серий (партий).

### РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Набор применяется в качестве вспомогательного средства при скрининге морфологических изменений в гинекологических препаратах. Полихромная окраска способствует визуализации морфологических особенностей препарата при микроскопии. Результат окраски должен иметь вид:

| № | Клеточные элементы и кровь                                      | Особенности окрашивания     |
|---|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 1 | Ядро                                                            | синий цвет                  |
| 2 | Ядрышки                                                         | красный или розовый цвет    |
| 3 | Реснички                                                        | красный или розовый цвет    |
| 4 | Цитоплазма в зависимости от степени зрелости плоского эпителия: |                             |
|   | Поверхностного слоя и зрелого промежуточного слоя               | красный или розовый цвет    |
|   | Парабазального и базального слоев                               | от серо-зеленого к зеленому |
|   | Кератин                                                         | оранжевый цвет              |
| 5 | Эритроциты                                                      | красный или розовый цвет    |
| 6 | Лейкоциты                                                       | синий цвет                  |

Постановка диагноза не входит в назначение набора реагентов. Интерпретация результатов окраски проводится квалифицированным медицинским специалистом на основании выявленных морфологических особенностей в окрашенном препарате в соответствии с применяемыми в КДЛ нормативными актами.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Срок годности набора – 12 месяцев (1 год).

Хранение и транспортировка набора реагентов осуществляется в плотно закрытой потребительской таре, при температуре окружающей среды от +2°С до +25°С в защищенном от света месте вдали от открытого огня, не допуская воздействия прямых солнечных лучей. Транспортировка набора реагентов осуществляется всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта.

Срок хранения набора соответствует сроку годности при условии достаточной герметизации тары после каждого вскрытия. Все компоненты набора следует хранить в плотно укупленном состоянии. При недостаточной герметизации происходит испарение компонентов набора, что может отрицательно повлиять на качество окраски, вплоть до приведения к полной непригодности набора.

Номер партии и срок годности указаны на этикетке.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий (ТУ) при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных в ТУ. Менеджмент рисков осуществляется согласно ГОСТ ISO 14971.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «МЛТ-ПАП-ДИФФ» следует обращаться в ООО МЛТ по адресу: 141982, Московская область, г. Дубна, ул. Университетская, д.19, тел.: +7(495) 287-81-00, электронная почта: mlt.llc@mail.ru – отдел сбыта продукции.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с «Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами» СанПиН 2.1.7.2790 отходы от работы с набором «МЛТ-ПАП-ДИФФ» с использованием образцов гинекологических мазков пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на ¾, завязывают, маркируют надписью: «Отходы. Класс Б», наносят на бирку название организации, дату и ФИО исполнителя и помещают на участок временного хранения до вывоза транспортом специального подразделения к месту обеззараживания и утилизации.

Непригодные реагенты и реагенты с истекшим сроком годности утилизировать по ГОСТ 51088 как медицинские отходы класса А.

При использовании набора по назначению и в соответствии с данной инструкцией противопоказаний и ограничений к применению нет.

Код номенклатурной классификации набора в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 г. № 4н с изменениями согласно Приказа МЗ РФ от 25 сентября 2014 г. № 557н): 230550.

Код ОКПД 2 (по Общероссийскому классификатору продукции ОК 034-2014): 21.20.23.110.

Литература:

1. Г. Гилл «Клиническая цитология. Теория и практика цитотехнологии.» М. Практическая медицина 2015 г. ISBN 978-5-98811-345-4, 978-1-4614-4932-4.
2. ГОСТ Р 57005-2016 Диагностика в онкологии. Скрининг. Рак шейки матки.
3. История окраски по Папаниколау, примеры адаптаций методик на автоматах серии АФОМК, <http://www.papanicolaou.ru/>
4. CLSI GP15-A3 Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline – Third Edition. ISBN 1-56238-679-4 Vol.28 No. 28.

| Версия № | Дата       | Комментарии                                                                                    | Ответственное лицо |
|----------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 11/2017  | 20.11.2017 | Первая версия                                                                                  | Полевой            |
| 02/2018  | 20.02.2018 | Внесены исправления в соответствии с письмом Росздравнадзора № 10-3243/18 от 25 января 2018 г. | Полевой            |

«СОГЛАСОВАННО»  
Генеральный директор  
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»  
Варнавичус П.К.  
« 9 04 2018 г.

Рекомендованная методика для ручного окрашивания набором реагентов для окраски гинекологических мазков по Папаниколау «МЛТ-ПАП-ДИФФ»

| Процесс (Реагент)                                                                          | Длительность процесса |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Фиксация (Фиксатор-спрей)                                                                  | 15 мин                |
| Промывка (водопроводная вода)                                                              | 30 сек                |
| Промывка (дистиллированная вода)                                                           | 5 сек                 |
| Окрашивание (Краска гематоксилин по Гиллу-2 (Папаниколау-1))                               | 3 мин                 |
| Отсинивание (водопроводная вода)                                                           | 2 мин                 |
| Промакивание (фильтровальная бумага)                                                       | -                     |
| Окрашивание (Краска OG (Папаниколау-2)/ Концентрат краски OG (Папаниколау-2))              | 15 сек                |
| Промакивание (фильтровальная бумага)                                                       | -                     |
| Удаление излишков красителя (Раствор для дегидратации (изопропиловый спирт), первый сосуд) | 10 сек                |
| Промакивание (фильтровальная бумага)                                                       | -                     |
| Окрашивание (Краска ЕА (Папаниколау-3)/ Концентрат краски ЕА (Папаниколау-3))              | 3 мин                 |
| Промывка (Вода водопроводная)                                                              | 2 сек                 |
| Промакивание (фильтровальная бумага)                                                       | -                     |
| Удаление воды из препарата (Раствор для дегидратации (изопропиловый спирт) первый сосуд)   | 10 сек                |
| Промакивание (фильтровальная бумага)                                                       | -                     |
| Удаление воды (Раствор для дегидратации(изопропиловый спирт), второй сосуд)                | 10 сек                |
| Удаление воды (Раствор для дегидратации (изопропиловый спирт), третий сосуд)               | 10 сек                |
| Просветление (Просветляющий раствор (ксилол))                                              | 10 сек                |
| Заключение под покрывное стекло (Монтирующая (закрывающая) среда (бальзам))                |                       |

ПРОШИТО  
В КОЛИЧЕСТВЕ 6 ЛИСТОВ

«5» 01 год

Ген. Директор  
ООО «ВЫМПЕ» МЕДЦЕНТР»  
Варнавичус П.К.

