

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО "ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ"



О.В. Толстова

"28" декабря 2018 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

Набора реагентов для постановки тимоловой пробы
в сыворотке крови человека турбидиметрическим методом
(ТИМОЛОВАЯ ПРОБА-ОЛЬВЕКС)

Версия 2

Взамен утверждённой 23.03.2015

Назначение

Набор «ТИМОЛОВАЯ ПРОБА-ОЛЬВЕКС» предназначен для оценки устойчивости белков в сыворотке крови человека турбидиметрическим методом в клинической лабораторной диагностике.

Количество определений зависит от используемого фотометрического оборудования и минимального рабочего объёма кюветы. Согласно стандартной процедуре анализа набор рассчитан на проведение 330 или 500 определений.

Потенциальный пользователь набора: специалист клинико-диагностической лаборатории.

Диагностическая роль:

Повышение величины тимолового помутнения в сыворотке крови наблюдается при заболеваниях печени (болезнь Боткина, вирусные и токсические гепатиты, цирроз печени), системных коллагенозах (системная красная волчанка, дерматомиозит, склеродермия, ревматоидный артрит и др.), малярии, вирусных инфекциях.

Принцип метода

При взаимодействии сыворотки крови с тимолом в трис-малеатном буфере (рН 7,55) возникает помутнение, обусловленное образованием глобулино-тимоло-липидного комплекса. Интенсивность помутнения, которая зависит от количества и соотношения отдельных белковых фракций, измеряется турбидиметрически при длине волны 650 (630-690) нм. Результаты измерений выражаются в единицах помутнения по Shank-Noagland (ед.S-H).

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

Реагент 1 (концентрированный раствор тимола), содержащий Трис, 50 ммоль/л; малеиновую кислоту, 20 ммоль/л; тимол, 333 ммоль/л; этанол, 2,0 г/л; раствор HCl 4M, 3,0 г/л; натрия гидроксид до рН 8,22 – 2 флакона (по 11 мл) или 3 флакона (по 11 мл);

Реагент 2 (раствор серной кислоты), содержащий 2,5 моль/л серной кислоты – 1 флакон (11 мл) или 1 флакон (11 мл);

Реагент 3 (барий хлористый), содержащий 48 ммоль/л бария хлористого – 1 флакон (5,0 мл) или 1 флакон (5,0 мл).

Информация для заказа

Кат. №	Комплектация набора			Количество определений
	Реагент 1	Реагент 2	Реагент 3	
031.001	2 фл. х 11 мл	1 фл. х 11 мл	1 фл. х 5 мл	330 опр.
031.011	3 фл. х 11 мл	1 фл. х 11 мл	1 фл. х 5 мл	500 опр.

Аналитические характеристики

Линейная область определения от 0 до 20 ед. S-H.

Коэффициент вариации результатов определений не более 8%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины 0-4 ед. S-H.

Рекомендуется в лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Сыворотка крови без следов гемолиза.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2a (приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания реагентов на кожу и слизистые необходимо пораженный участок промыть большим количеством проточной воды.

При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфицированным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г и в методических указаниях МУ 287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998.).

При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки, так как образцы сыворотки крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество набора, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьёзному искажению результатов.

Твёрдые и жидкие отходы, образующиеся в результате использования набора реагентов, относятся к классу Б согласно классификации медицинских отходов СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию использованных реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

Оборудование, материалы и реагенты:

- спектрофотометр, длина волны 650 нм, или фотоэлектроколориметр, длина волны 630-690 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, обеспечивающий поддержание температуры $+(10 \pm 1)^\circ\text{C}$ (ТУ 64-1-1317-89) или холодильник бытовой с контролем температуры в диапазоне $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- пипетки, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 0,05 мл до 6,0 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0-10 мл;
- колбы мерные вместимостью 50, 250 и 500 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% раствор хлористого натрия);
- перчатки медицинские одноразовые;
- таймер.

Подготовка к анализу

Рабочий раствор тимола: в мерную колбу вместимостью 500 мл налить 450 мл дистиллированной воды и, при постоянном перемешивании, пипеткой постепенно добавить 10 мл Реагента 1, при этом наконечник дозатора должен быть погружен в воду в колбе. Раствор довести дистиллированной водой до метки и тщательно перемешать. Рабочий раствор тимола стабилен в течение 3 месяцев при комнатной температуре $+(18-25)^\circ\text{C}$ в плотно закрытой посуде. При появлении осадка профильтровать через бумажный фильтр.

Рабочий раствор серной кислоты: в мерную колбу вместимостью 250 мл налить 200 мл дистиллированной воды и, при постоянном перемешивании, пипеткой постепенно добавить 10 мл Реагента 2. Довести до метки дистиллированной водой и перемешать. Перед применением рабочий раствор серной кислоты должен быть охлажден до $+10^\circ\text{C}$.

Калибровочная суспензия сульфата бария: в мерную колбу вместимостью 50 мл налить примерно 40 мл охлажденного до $+10^\circ\text{C}$ рабочего раствора серной кислоты и, при постоянном перемешивании, пипеткой постепенно добавить 1,5 мл Реагента 3. При указанной температуре размеры частиц приципитированного сульфата бария дают относительно стабильный результат. Раствор довести охлажденным рабочим раствором

серной кислоты до метки и тщательно перемешать. Калибровочную суспензию сульфата бария необходимо готовить непосредственно перед анализом, так как она хранению не подлежит.

Тщательно закрывайте флаконы с реагентами после каждого использования.

Построение калибровочного графика

Приготовить калибровочные пробы в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1

№ пробы	Рабочий раствор серной кислоты, мл	Калибровочная суспензия сульфата бария, мл	Единицы помутнения, ед. S-H
1	4,5	1,5	5
2	3,0	3,0	10
3	1,5	4,5	15
4	-	6,0	20

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре $+(18-25)^{\circ}\text{C}$. Непосредственно перед измерением содержимое пробирок еще раз перемешать и измерить величину оптической плотности при длине волны 650 (630 – 690) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см против холостой пробы (рабочего раствора серной кислоты).

Построить калибровочный график, откладывая на оси абсцисс значения единиц помутнения по Shank-Hoagland (ед.S-H) для каждой калибровочной пробы, а на оси ординат – соответствующие им значения оптической плотности.

Проведение анализа

При проведении анализа руководствоваться таблицей 2.

Таблица 2

Стандартная постановка тимоловой пробы.

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба	Бланк пробы (для липемичных сывороток)
Сыворотка крови, мл	0,05	-	0,05
Рабочий раствор тимола, мл	3,00	3,00	-
Физ.раствор, мл	-	0,05	3,00

Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при комнатной температуре $+(18-25)^{\circ}\text{C}$. Непосредственно перед измерением содержимое пробирок еще раз перемешать и измерить величину оптической плотности при длине волны 650 (630 – 690) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см против холостой пробы.

Если используется липемичная сыворотка, то в качестве холостой пробы (бланк пробы) используют пробу, содержащую 0,05 мл сыворотки и 3,0 мл физиологического раствора.

Объемы опытных проб и реагентов могут быть пропорционально изменены, соблюдая соотношение образец/реагент – 1:60.

Расчеты

Величину помутнения определить по калибровочному графику.

При получении значений помутнения выше 20 ед. S-H, анализируемый образец необходимо развести физиологическим раствором в соотношении 1:1, повторить анализ и полученный результат умножить на 2.

Транспортирование

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта при температуре $+(18-25)^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха не более 80%.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Условия хранения и эксплуатации набора

После подготовки набора к эксплуатации исследования проводить в нормальных климатических условиях:

- температура окружающего воздуха: $+(20\pm 5)^\circ\text{C}$;
- относительная влажность: $(65\pm 15)\%$;
- атмосферное давление: (760 ± 20) мм рт. ст.

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в защищенном от света месте при комнатной температуре $+(18-25)^\circ\text{C}$ и относительной влажности воздуха не более 80% в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 24 месяца.

Реагенты 1, 2 и 3 после вскрытия флакона стабильны не менее 6 месяцев при условии достаточной герметизации флакона и хранении в защищенном от света месте при комнатной температуре $+(18-25)^\circ\text{C}$.

Для приготовления рабочего раствора тимола и при проведении анализа необходимо использовать чистую посуду без следов синтетических моющих средств, т.к. они препятствуют развитию мутности.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

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

Изделия, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

Утилизация или уничтожение

Неиспользованные наборы реагентов, потерявшие свои потребительские свойства, а также с истекшим сроком годности, относятся к классу А и Г согласно классификации медицинских отходов СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и подлежат утилизации.

Наборы реагентов, подлежащие утилизации, вскрыть и вынуть из них флаконы с реагентами. Флаконы с реагентами утилизируются путем сливания жидких компонентов в отдельную ёмкость с последующим разведением водой 1:100 и сливом в канализацию. Остатки упаковок вывозятся как производственный или бытовой мусор.

Гарантии изготовителя

Предприятие-изготовитель Общество с ограниченной ответственностью «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ» (ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ») гарантирует соответствие набора требованиям технических условий ТУ 9398-069-44276594-2014 «Набор реагентов для постановки тимоловой пробы в сыворотке крови человека турбидиметрическим методом (ТИМОЛОВАЯ ПРОБА-ОЛЬВЕКС)».

При соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных технической и эксплуатационной документацией, срок годности набора 24 месяца со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя.

По вопросам, касающимся качества набора «ТИМОЛОВАЯ ПРОБА-ОЛЬВЕКС», следует обращаться в ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ».

Юридический адрес: Россия, 199155, Санкт-Петербург, пер. Декабристов д.5/17, пом.1.

Адрес производства: Россия, 192029, Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, д.70, корп.2, лит. А, пом.1Н.

Адрес для почтовых отправлений: 192029, Санкт-Петербург, а/я 3.

Тел./факс (812) 412-83-02, e-mail: office@olvex-d.ru.

Главный научный сотрудник

ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ»

28 DEC 2018

Юшин К.В.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор Научно-методического Центра молекулярной медицины МЗ РФ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России, главный специалист Росздравнадзора по клинической лабораторной диагностике в СЗФО,

профессор, д.м.н.

Эмануэль В.Л.

Прошито
Пронумеровано
Скреплено печатью

6 листа (ов)

Ведущий документовед
Административного отдела

Т.С. Розмыслова



Прошито, пронумеровано,
скреплено печатью 6 (шесть) листов

Генеральный директор
ООО «ОЛЬВЕКС ДИАГНОСТИКУМ»

14 ЯНВ 2019
Толстова О.В.

