



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО МЛТ

А.В. Безруков

12 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ БЫСТРОГО ОКРАШИВАНИЯ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И МАЗКОВ КРОВИ ПО РОМАНОВСКОМУ «МЛТ-ДИФФ-КВИК» ПО ТУ 21.20.23-002-23475651-2021

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для быстрого окрашивания цитологических препаратов и мазков крови по Романовскому «МЛТ-ДИФФ-КВИК» по ТУ 21.20.23-002-23475651-2021 предназначен для быстрого окрашивания цитологических препаратов и мазков крови по Романовскому. Функциональное назначение набора – вспомогательное средство для микроскопии цитологических препаратов и мазков крови. Только для *in vitro* диагностики.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика. Только для *in vitro* диагностики.

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:

Реагент № 1 – Фиксатор – 1 флакон 500 мл;

Реагент № 2 – Краска Эозин – 1 флакон 500 мл;

Реагент № 3 – Краска Азур – 1 флакон 500 мл.

Число исследуемых проб биологического материала: 500 препаратов (при расходе 1 мл каждого реагента на одно стекло).

Принцип метода

Форменные элементы крови фиксируются и избирательно окрашиваются реагентами, входящими в состав набора, для последующего изучения методом световой микроскопии. Фиксация препарата, вызывает коагуляцию белка, прикрепляет препарат к стеклу, придает клеточным элементам стойкость по отношению к содержащейся в красках воде, которая без фиксации мазков гемолизует эритроциты и изменяет строение лейкоцитов. Окраска основана на химическом сродстве основных частей клеток к краскам. В зависимости от компонентов цитоплазма клеток имеет сродство к кислым и основным красителям, и в равной мере поглощает и кислые, и основные красители. Ядра, содержащие в значительном количестве ДНК, связывают главным образом основной краситель. В наборе в качестве кислого красителя используется эозин Y, основного красителя – азур B.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Реагент №1 – Фиксатор содержит метанол, являющийся ядовитым и горючим веществом.

При работе реагентами из набора 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 требований СанПиН 3.3686, ГОСТ Р 52905.

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

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

- вода дистиллированная
- вода питьевая (водопроводная)
- емкость для окраски препаратов
- масло иммерсионное
- фильтровальная бумага
- перчатки одноразовые резиновые или пластиковые
- микроскоп лабораторный
- секундомер или автомат окраски

ИССЛЕДУЕМЫЕ ПРОБЫ

Вид исследуемого биологического материала

Исследуемый материал: цитологические препараты, мазки крови на предметных стеклах.

Процедура получения исследуемого биологического материала

Подготовка к исследованию, забор цитологического материала, забор крови и приготовление препаратов должны проводиться квалифицированным медицинским персоналом в соответствии с применяемыми в КДЛ нормативными актами ГОСТ Р 57005.

Условия хранения биологического материала

Для нефиксированных препаратов допускается хранение в закрытом контейнере в сухом месте при комнатной температуре не более 3 суток, т.к. клетки на нефиксированных препаратах со временем теряют способность правильно воспринимать окраску.

Ограничения по использованию биологического материала:

Цитологические препараты должны быть тонкими, однослойными, равномерной толщины, располагаться на расстоянии 1–1,5 см от полосы для маркировки предметного стекла, отступ от длинного края предметного стекла 0,2–0,3 см. Препараты из жидкого цитологического материала должны заканчиваться щеточкой.

Мазки крови должны быть тонкими, желтоватого цвета, полупрозрачными, занимать примерно 3/4 предметного стекла, иметь начало, хорошо выраженные края, щеточку, быть тонкими и равномерными. Толстые мазки использовать не следует, так как в них морфология клеток трудноразличима.

Перед окрашиванием препараты должны быть высушены на воздухе.

ПРОВЕДЕНИЕ ОКРАСКИ

Методика окрашивания предполагает последовательную обработку препаратов на предметных стеклах посредством окунаний в краски и другие технологические жидкости.

Реагенты готовы к проведению окрашивания.

1. Налить реагенты в отдельные емкости.
2. Зафиксировать высушенные препараты **5-10 окуканиями по 1с** в реагенте 1 (Фиксатор). После фиксации дать фиксатору стечь, избыток удалить о край посуды.
3. Окрасить препарат в реагенте 2 (краска Эозин) **1-3 окуканиями по 1с**. После окраски дать реагенту возможность стечь, избыток удалить о край посуды, промакнуть край стекла о фильтровальную бумагу.
4. Промыть препарат в водопроводной воде **3 окуканиями по 1 с**. После окончания промывки дать воде стечь, избыток удалить о край посуды, промакнуть край стекла о фильтровальную бумагу.
5. Окрасить препарат в реагенте 3 (краска Азур) **3-7 окуканиями по 1с**. После окраски дать раствору возможность стечь, избыток удалить о край посуды.
6. Промыть препарат в водопроводной воде **5 окуканиями по 1 с**. После окончания промывки дать воде стечь, избыток удалить о край посуды. Высушить препарат на воздухе.

Примечания:

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 количества окунаний в краски и другие технологические жидкости.
3. Перед погружением стекла в следующий реагент рекомендуется промакивать край стекла о фильтровальную бумагу для удаления избытка реагентов. Использование фильтровальной бумаги препятствует перекрестному загрязнению рабочих растворов, что увеличивает их срок службы.
4. Корректировку соотношения синих и розовых оттенков рекомендуется проводить путем изменения количества окунаний в краски. Также корректировка соотношения синих и розовых оттенков возможна путем финального дифференцирования. Для достижения более розовой окраски ядер и клеток следует использовать дистиллированную воду или буфер с кислым значением pH. При увеличении времени выдержки в них окраска ядер и клеток становится более светлой.
5. При окрашивании возможно вымывание гранул базофилов и тромбоцитов.
6. Перед высушиванием препарата после промывки в водопроводной или дистиллированной воде допускается кратковременное ополаскивание препарата в изопропиловом спирте (Ч, ХЧ, ОСЧ) для ускорения высыхания препарата.
7. Для качественной обработки препаратов уровень реагентов в ваннах должен быть одинаковым и покрывать погруженный препарат. Уровень водопроводной воды при промывке должен быть выше уровня красок.
8. При длительных интервалах между циклами окраски рекомендуется закрывать емкости крышками для предотвращения испарения.
9. Допускается выпадение незначительного осадка в реагентах. Для устранения осадка нужно перемешать реагент взбалтыванием перед наполнением емкости для окрашивания.
10. Не допускается применение реагентов из наборов разных серий (партий).
11. Допускается выполнять методику с использованием автоматов окраски. Программирование методики окраски осуществляется согласно руководству по эксплуатации автомата.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Набор применяется в качестве вспомогательного средства для микроскопии цитологических препаратов и мазков крови.

Результат окраски мазков крови должен иметь вид:

Эритроциты – розовые, розовые с серым, бежевым или сиреневым оттенком;

Тромбоциты – грануломер – фиолетовый, красно-фиолетовый или темно-фиолетовый; гиаломер – голубой или розовато-сиреневый.

Лейкоциты:

Лимфоциты – ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные; цитоплазма – голубая, серо-голубая или сине-голубая;

Моноциты – ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные; цитоплазма – серая или серо-голубая, с нежной азурофильной зернистостью;

Нейтрофилы – ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные; цитоплазма – бледно-розовая, зернистость – фиолетовая;

Эозинофилы – ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные; цитоплазма – светло-голубая или серо-голубая, зернистость – оранжево-красная или розово-красная;

Базофилы – ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные; цитоплазма – бледно-розовая или светло-фиолетовая, зернистость – фиолетовая или сине-черная.

Результат окраски цитологических препаратов должен иметь вид:

Ацидофильные структуры окрашиваются в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.

Ядра – синие, сине-фиолетовые, фиолетовые, фиолетово-красные;

Цитоплазма клеток — от голубого до фиолетового и бледно-лилового, розового цвета;

Бактерии – синие, сине-фиолетовые.

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°C до +25°C 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 укупоренном 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-ДИФФ-КВИК» следует обращаться в ООО МЛТ по адресу: 141981, Московская область, г. Дубна, ул. Технологическая, д.7, тел.: +7(495) 287-81-00, электронная почта: mlt.llc@mail.ru – отдел сбыта продукции.

МЕРЫ ПО БЕЗОПАСНОЙ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

В соответствии с СанПиН 2.1.7.3684 отходы от работы с набором «МЛТ-ДИФФ-КВИК» с использованием образцов пациентов относятся к классу опасности Б.

Отходы собирают в одноразовые пакеты желтого цвета, пакеты заполняют на $\frac{3}{4}$, 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): **232730**.

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

Литература:

1. Клиническая цитология: Практическое руководство / Н.Ю. Полонская. – М.: Практическая медицина, 2018.
2. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник/ Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др.; под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987.

Приложение 1

Рекомендованная методика для ручного окрашивания набором реагентов для окраски цитологических препаратов и мазков крови по Романовскому «МЛТ-ДИФФ-КВИК»

Процесс (Реагент)	Длительность процесса
Фиксация (Реагент №1 – Фиксатор)	5-10 окунаний по 1 сек
Окрашивание (Реагент №2 – Краска Эозин)	1-3 окунания по 1 сек
Промывка (Вода водопроводная)	3 окунания по 1 сек
Окрашивание (Реагент №3 – Краска Азур)	3-7 окунаний по 1 сек
Промывка (Вода водопроводная)	5 окунания по 1 сек
Высушить препарат на воздухе	

Версия №	Дата	Комментарии	Ответственное лицо
1/2021	01.06.2021	Первая версия	Полевой С.В.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.
«13» 12 2021 г.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 4
(из 2-х) листов

Генеральный директор
ООО МЛТ



А.В. Безруков