

УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

Президент ЗАО «ЭКОлаб»

от _____ 2010 г. № _____

С. Г. Марданлы

«ЭКОлаб» _____ 2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КАЛА

(«Клиника-Кал»)

1. Назначение

Набор реагентов предназначен для определения в кале скрытой крови, стеркобилина, билирубина и приготовления препаратов для микроскопического исследования в клиничко-диагностических лабораториях.

Набор выпускается в пяти вариантах комплектации.

Комплект 1 рассчитан на 1000 определений скрытой крови, 50 определений стеркобилина, 200 определений билирубина и на приготовление 2000 препаратов для микроскопического анализа кала.

Комплект 2 рассчитан на 1000 определений скрытой крови.

Комплект 3 рассчитан на 50 определений стеркобилина.

Комплект 4 рассчитан на 200 определений билирубина.

Комплект 5 рассчитан на приготовление 2000 препаратов для микроскопического анализа кала.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип метода

Определение скрытой крови

В присутствии гемоглобина крови бензидин в течение первых двух минут реагирует с перекисью водорода с образованием соединений, окрашенных в зеленый, сине-зеленый или синий цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству крови в кале.

Определение стеркобилина

Стеркобилин взаимодействуя с уксуснокислым цинком, в присутствии раствора Люголя, образует соединения, дающие зеленую флюоресценцию.

Определение билирубина

Билирубин под действием реактива Фуше превращается в зеленый биливердин; интенсивность окраски пропорциональна количеству билирубина в кале.

Микроскопический анализ

- выявление нейтральных жиров и капель жирных кислот.

Под воздействием судана III капли нейтральных жиров и капли жирных кислот окрашиваются в красный или оранжевый цвет.

- дифференциация капель жирных кислот от мыл.

Раствор метиленового синего 0,5 % окрашивает капли жирных кислот в синий или голубой цвет, капли нейтрального жира не окрашиваются.

- дифференциация капель нейтрального жира от капель жирных кислот.

Подогревание нативного неокрашенного препарата приводит к сплавлению в капли кристаллов и глыбок жирных кислот. Глыбки и кристаллы мыл в каплях не сплавляются.

- выявление мыл.

Под воздействием уксусной кислоты мыла расщепляются с освобождением жирных кислот, которые при нагревании плавятся, образуя капли.

- обнаружение крахмала и йодофильной флоры.

Раствор Люголя окрашивает крахмал, в зависимости от стадии его переваривания в иссиня-й, фиолетовый или красно-бурый цвет. Йодофильная флора нормальная и патологическая окисляется йодом в черный или коричневый цвет за счет содержащейся внутриклеточно грану-Цисты простейших окрашиваются в желтый цвет.

- выявление яиц гельминтов.

Глицерин «просветляет» препарат, очищая от бактерий и калового детрита яйца гельминтов.

Такие элементы кала, как мышечные волокна, растительную клетчатку, лейкоциты, эритро-, кишечный эпителий, слизь, яйца гильминтов, паразитирующие в кишечнике простейшие, оорганизмы, кристаллы и др. можно обнаружить путем микроскопирования нативного неок-ного препарата.

2.2. Состав набора

Бензидин – 1 флакон (1,0 г).

Кислота уксусная, 50% раствор – 1 флакон (100 мл).

Гидроперит, таблетки – 1 упаковка (6 шт).

Цинк уксуснокислый, 100 г/л – 1 флакон (100 мл).

Раствор Люголя – 1 флакон (50 мл).

Реактив Фуше – 1 флакон (100 мл).

Кислота уксусная, 30% раствор – 1 флакон (100 мл).

Судан III, 2 % раствор 1 флакон (100 мл).

Метиленовый синий, 2% раствор – 1 флакон (25 мл).

Глицерин – 1 флакон (130 г).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Определение скрытой крови.

Норма: реакция на кровь отрицательная.

Определение стеркобилина

Норма: 40-280 мг/сут

Определение билирубина

Норма: обнаруживается только до 3-х месячного возраста.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

В состав набора входят бензидин, уксусная и трихлоруксусная кислоты, судан III, метиле-вый синий. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на ожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством рочной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности – соблюдение "Правил устройства, техники безопасности, произ-одственной санитарии, противозидемического режима и личной гиены при работе в лаборато-ях (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 и реагенты:

- Флакон из темного стекла вместимостью 10 мл;
- пипетка, позволяющая отбирать 5 мл;
- колбы конические с притертой пробкой вместимостью 100 мл;
- колба мерная вместимостью 200 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 100 мл;
- кювета эмалированная или белая керамическая плитка;
- пипетки глазные;
- палочки стеклянные;
- стекла предметные;
- стекла покровные;

- пробирки химические стеклянные вместимостью 10 мл;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- воронки химические;
- ступка фарфоровая с пестиком;
- пробирки центрифужные;
- микроскоп;
- секундомер;
- спиртовка;
- вода дистиллированная;
- раствор натрия хлористого 154 ммоль/л;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Кал, эмульсия кала

Приготовление эмульсии кала (при плотной или неоднородной консистенции каловых масс)

Кусочек кала помещают в фарфоровую ступку и растирают в небольшом количестве дистиллированной воды или раствора хлорида натрия 154 ммоль/л до консистенции жидкой кашицы. Можно воспользоваться центрифужной пробиркой и стеклянной палочкой.

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочих растворов реагентов

7.1.1. Приготовление раствора бензидина.

Около 0,05 г бензидина (на кончике шпателя) внести во флакон из темного стекла вместимостью 10 мл, добавить 5 мл раствора уксусной кислоты, 50 % и тщательно перемешать до полного растворения.

Раствор бензидина готовят непосредственно перед применением; хранению не подлежит.

7.1.2. Приготовление раствора перекиси водорода, 3 %.

В колбу коническую вместимостью 100 мл внести 4,5 г гидроперита (3 таблетки), добавить 100 мл дистиллированной воды, и тщательно перемешать до полного растворения.

Раствор перекиси водорода можно хранить при температуре (2-8)°С в защищенном от света месте не более 3 месяцев.

7.1.3. Цинк уксуснокислый.

Готов к применению. Перед применением взболтать. После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре (18-25)°С в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

7.1.4. Приготовление рабочего раствора Люголя

Раствор Люголя разбавить водой дистиллированной в соотношении 1:1.

Рабочий раствор Люголя можно хранить при комнатной температуре в защищенном от света месте не более 6 месяцев.

7.1.5. Реактив Фуше

Готов к применению. Перед применением взболтать.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

7.1.6. Судан III, 2 % раствор

Готов к применению.

После вскрытия флакона раствор можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

7.1.7. Приготовление раствора метиленового синего, 0,5 %.

Раствор метиленового синего, 2 % разбавить дистиллированной водой в соотношении 1:3.

Раствор метиленового синего, 0,5 % можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

7.1.8. Глицерин

Готов к применению.

После вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре (18-25)°С в плотно закрытом флаконе не более 1 года.

7.2. Проведение анализа

7.2.1. Определение скрытой крови

Кал стеклянной палочкой нанести в виде мазка на предметное стекло (или взять 2-3 капли эмульсии кала). Стекло с нанесенным материалом поместить в белую эмалированную кювету или белую керамическую плитку.

К препарату добавить 2-3 капли раствора бензидина и 2-3 капли раствора перекиси водорода и перемешать стеклянной палочкой.

7.2.2. Определение стеркобилина

Эмульсию кала внести в пробирку в количестве 1,0-2,0 мл, добавить равное количество (варительно взболтанного) спиртового раствора уксуснокислого цинка и 1 каплю рабочего раствора Люголя. Полученную смесь профильтровать в стеклянную пробирку.

7.2.3. Определение билирубина

Эмульсию кала налить по 1,0-2 мл в 2 пробирки (опыт и контроль). В опытную пробирку добавить по каплям реактив Фуше (объем добавляемого реактива не должен быть больше объема эмульсии кала).

Примечание. При проведении анализа обе пробирки держать в руке. Сравнивать окраску в одной пробирке с контрольной в проходящем свете.

7.2.4. Микроскопическое исследование

Для микроскопического исследования кала готовят 6 препаратов:

- нативный неокрашенный препарат;
- препарат с суданом III;
- препарат с метиленовым синим;
- препарат с 30% раствором уксусной кислоты;
- препарат с раствором Люголя;
- препарат с глицерином.

При приготовлении каждого из них на предметное стекло стеклянной палочкой наносят 1-2 капли эмульсии кала или жидкой каловой массы, в препараты 2-6 вносят по 1-2 капли соответствующего реактива. При этом каплю эмульсии краем покровного стекла смешивают с каплей реактива, затем покрывают покровным стеклом и рассматривают сначала под малым (8x10), а затем большим (40x10) увеличением.

При неоднородности каловых масс препараты следует готовить из макроскопически видимых плотных частиц и из жидкой части.

8. Регистрация результатов

При определении скрытой крови, стеркобилина, билирубина результат регистрируют визуально. При микроскопическом исследовании результат регистрируют визуально, с помощью микроскопа.

9. Учет результатов

9.1 Определение скрытой крови

Появление зеленого, сине-зеленого или синего окрашивания в течение первых 2 минут после смешивания реагентов указывает на наличие в кале крови (положительная реакция). Появление окраски в более позднее время не учитывается (отрицательная реакция).

9.2. Определение стеркобилина

При наличии стеркобилина (положительная реакция) фильтрат дает зеленую флюоресценцию, которая видна на темном фоне.

9.3. Определение билирубина

В присутствии билирубина появляется зеленое или зеленоватое окрашивание (положительная реакция).

9.4. Микроскопическое исследование

Нативный неокрашенный препарат

В нативном препарате можно обнаружить большинство элементов кала: мышечные волокна (переваренные, непереваренные и слабонереваренные), растительную клетчатку (переваримую, непереваримую), нейтральный жир в виде бесцветных капель, жирные кислоты в виде капель, солевых кристаллов и глыбок, мыла – в виде кристаллов, игл и глыбок, лейкоциты, эритроциты.

ишечный эпителий, слизь, яйца гельминтов, паразитирующие в кишечнике простейшие, микроорганизмы, кристаллы. Для получения достоверного результата исследования при обнаружении в неокрашенном препарате любых видов жиров и яиц гельминтов необходимы дополнительные исследования.

Препарат с суданом III

Капли нейтральных жиров и капли жирных кислот окрашены в красный или оранжевый, а кристаллы и глыбки жирных кислот и мыла не окрашиваются

Препарат с метиленовым синим

Капли жирных кислот окрашены в синий или голубой цвет, капли нейтрального жира не окрашиваются.

Проба с нагреванием

Дифференцирует жирные кислоты от мыл. Нативный неокрашенный препарат подогревают (доводя до кипения) и тотчас микроскопируют. Кристаллы и глыбки жирных кислот сплавляясь в капли (вновь переходящие в глыбки при охлаждении), глыбки и кристаллы мыл в капли не сплавляются. Для постановки пробы может быть также использован препарат с метиленовым синим.

Препарат с раствором уксусной кислоты, 30 %

Глыбки и кристаллы мыл сплавляются в капли после нагрева (до кипения) препарата с уксусной кислотой.

Препарат с раствором Люголя

Крахмал, расположенный внутри- и внеклеточно на разных стадиях переваривания окрашивается в иссиня-черный, фиолетовый или красно-бурый цвета. Йодофильная флора нормальная атологическая окрашивается йодом в черный или коричневый цвет. Цисты простейших окрашиваются в желтый цвет и в крупных формах хорошо видны ядра, более четко видны яйца гельминтов.

Препарат с глицерином

В очищенном от бактерий и калового детрита препарате можно обнаружить яйца гельминтов и установить их принадлежность. При обнаружении яиц гельминтов необходимо проведение специального гельминтологического исследования.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре (18-25)°С в течение всего срока годности.

Срок годности - 1 год.

Компоненты набора после вскрытия флаконов можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытых флаконах в течение срока годности набора.

Раствор бензидаина готовят непосредственно перед применением; хранению не подлежит.

Раствор перекиси водорода можно хранить при температуре (2-8)°С в защищённом от света месте не более 3 месяцев.

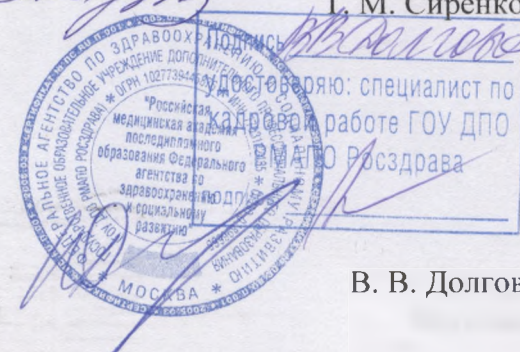
Рабочий раствор Люголя можно хранить при комнатной температуре (18-25) °С в защищённом от света месте не более 6 месяцев.

По вопросам, касающимся качества набора «Клиника - Кал», следует обращаться по адресу 12530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 30-93, 3-30-85 – отдел сбыта.

Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»

СОГЛАСОВАНО:

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава»
д.м.н., профессор


Т. М. Сиренко
Достоверно: специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
«РМАПО Росздрава»


В. В. Долгов

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

5

лист

Начальник лаборатории биохимии
ЗАО «ЭКОлаб»

Т. М. Сиренко

«18»

2010 г.

