

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент «ЭКОлаб»



С. Г. Марданлы

2009 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ
ТИМОЛОВОЙ ПРОБЫ В СЫВОРОТКЕ И ПЛАЗМЕ КРОВИ**

(«Тимоловая проба»)

1. Назначение

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

Набор выпускается в двух вариантах комплектации и рассчитан на проведение 165 и 500 определений при расходе 3,0 мл рабочего раствора Реагента 1 на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

Метод основан на определении интенсивности помутнения при образовании глобулин-тимол-липидного комплекса в результате взаимодействия тимолового реактива с белками сыворотки крови при pH 7,55. Интенсивность помутнения зависит от количества и взаимного соотношения белковых фракций и измеряется турбидиметрически при длине волны 630 (620-690) нм.

2.2. Состав набора

- Реагент 1 - концентрат тимолового реактива (тимол, 0,333 моль/л; трис (гидроксиметил) аминотетан, 0,5 моль/л; кислота малеиновая, 0,183 моль/л), pH 7,55 - 1 флакон (12 мл) или 3 флакона (по 12 мл).
- Реагент 2 - раствор кислоты серной, 2,5 моль/л - 1 флакон (10 мл).
- Реагент 3 - раствор бария хлористого, 48 ммоль/л - 1 флакон (5,0 мл).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность в диапазоне от 2 до 20 ед. S-H; отклонение - не более 10 %.

Чувствительность - не более 1 ед. S-H.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 10 %.

Качество набора может быть проверено по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные значения:

в сыворотке и плазме крови от 0 до 4 ед. S-H.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Реагент 2 содержит едкое вещество – кислоту серную, Реагент 3 содержит ядовитое вещество – барий хлористый. При работе с ними следует применять индивидуальные средства защиты. В случае попадания раствора на кожу и слизистые необходимо немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует немедленно выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

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 и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр, длина волны 630 (620-660) нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см или 0,5 см;

- таймер;
- колбы мерные вместимостью 50, 250 и 500 мл;
- пипетки позволяющие отбирать объемы жидкости 1,5, 3,0 и 10 мл;
- вода дистиллированная;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка, плазма крови.

7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов

7.1.1. Приготовление тимолового реактива

В мерную колбу вместимостью 500 мл налить 450 мл воды дистиллированной и при постоянном перемешивании, пипеткой постепенно внести 10 мл Реагента 1 - концентрата тимолового реактива. Носик пипетки должен быть погружен в воду. Довести объем раствора до метки водой дистиллированной, перемешать в течение 10 мин. Раствор должен быть прозрачный.

Тимоловый реактив можно хранить при комнатной температуре (18-25) °С в плотно закрытом флаконе не более 3 месяцев.

7.1.2. Приготовление рабочего раствора Реагента 2

В мерную колбу вместимостью 250 мл количественно перенести содержимое флакона с Реагентом 2 - раствор кислоты серной, 2,5 моль/л, довести объем раствора до метки водой дистиллированной, предварительно охлажденной до 8-10 °С, перемешать.

Рабочий раствор Реагента 2 можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

7.1.3. Приготовление калибратора - суспензии бария сернокислого

В мерную колбу вместимостью 50 мл пипеткой внести 1,5 мл Реагента 3 – раствора бария хлористого, 48 ммоль/л, довести объем раствора до метки рабочим раствором Реагента 2, предварительно охлажденным до 8-10 °С, перемешать.

Калибратор - суспензия бария сернокислого должен быть свежеприготовленным.

7.2. Проведение анализа

Компоненты и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице 1.

Таблица 1

Отмерить, мл	Опытная проба	Контрольная (холостая) проба
Тимоловый реактив	3,0	3,0
Сыворотка (плазма) крови	0,05	-
Вода дистиллированная	-	0,05

Содержимое пробирок тщательно перемешать, выдержать при комнатной температуре (18-25) °С в течение 30 мин. Перед измерением перемешать и измерить оптическую плотность проб против холостой пробы при длине волны 630 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см или 0,5 см.

Величину интенсивности помутнения проб определить по калибровочному графику, в единицах Шенка-Хогланда (S-H).

Примечание. При использовании кюветы меньшего объема расход реагентов может быть уменьшен при сохранении указанных выше соотношений.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 630 (620-690) нм;

Длина оптического пути: 1,0 см или 0,5 см;

Температура анализа: (18-25) °С;

Измерение: против холостой пробы.

9. Учет результатов реакции

Величину интенсивности помутнения определить по калибровочному графику.

Для построения калибровочного графика внести в пробирки рабочий раствор Реагента 2 (см п. 7.1.2.) и калибратор-суспензию бария сернокислого (см п. 7.1.3.) в количествах указанных в таблице 2.

Таблица 2

№№ проб	Рабочий раствор Реагента 2, мл	Калибратор (суспензия бария сернокислого), 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 выдержать в течение 30 мин при комнатной температуре. Перед измерением перемешать и измерить оптическую плотность проб против холостой пробы (рабочий раствор Реагента 2) при длине волны 630 нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см или 0,5 см. Построить калибровочный график зависимости оптической плотности (Е, ось ординат) от единиц помутнения (S-H, ось абсцисс).

10. Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при комнатной температуре в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 1,5 года.

Тимоловый реактив можно хранить при комнатной температуре (18-25) °С в плотно закрытом флаконе не более 3 месяцев.

Рабочий раствор Реагента 2 можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Реагент 3 после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе не более 6 месяцев.

Калибратор - суспензия бария сернокислого хранению не подлежит.

При получении значений интенсивности помутнения выше 20 ед. S-N пробу следует развести физиологическим раствором в соотношении 1:1, анализ повторить и полученный результат умножить на 2.

По вопросам, касающимся качества набора («Тимоловая проба») следует обращаться по адресу 142530, Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, ЗАО «ЭКОлаб»; тел/факс (49643) 3-30-93, 3-30-85 - отдел сбыта.

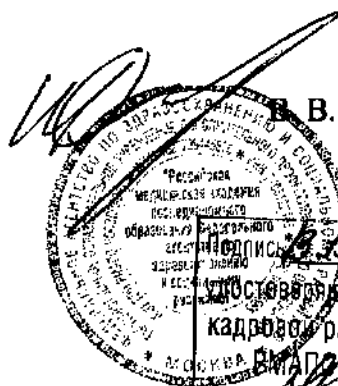
Начальник лаборатории
биохимии ЗАО «ЭКОлаб»



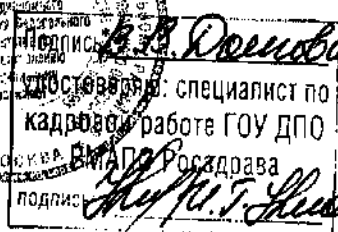
Т. М. Сиренко

СОГЛАСОВАНО:

Зав. Кафедрой клинической лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО
Росздравнадзора, д.м.н., профессор



В. В. Долгов



В. В. Долгов
Долгов В. В. - специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
Росздрава

подпись

Пропиновано, пронумеровано
и скреплено печатью

4 лист

Начальник лаборатории биохимии
ЗАО «ЭКО»

М. Сиренко
«2009 г.

