

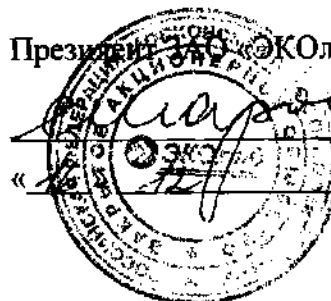
УТВЕРЖДЕНА

«УТВЕРЖДАЮ»

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г. № _____

Президент ЗАО «ЭКОлаб»



С. Г. Марданлы

2007 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ
ДЛЯ ФИКСАЦИИ И ОКРАСКИ ПРЕПАРАТОВ
ДЛЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
(«Гемокрафикс»)**

1. Назначение

Набор предназначен для фиксации и окраски форменных элементов крови, костного мозга и других препаратов в клинико-диагностических лабораториях.

Набор рассчитан на фиксацию и окраску 3-4 тыс. мазков крови или других препаратов при автоматическом способе окраски или 600-800 мазков при ручном способе окраски препаратов.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип метода

Метод основан на микроскопическом исследовании фиксированных и окрашенных препаратов с описанием морфологии клеточных элементов.

Метод фиксации основан на том, что обработка мазков фиксирующими жидкостями (фиксация), придает форменным элементам крови стойкости по отношению к воде, содержащейся в рабочем растворе красителя, которая гемолизует эритроциты и изменяет строение лейкоцитов. Кроме того, фиксация, вызывая коагуляцию белка, приводит к прикреплению препарата к стеклу.

Метод определения основан на том, что в результате взаимодействия с красителем форменные элементы крови приобретают специфическую окраску и это позволяет произвести их дифференцирование и подсчет их количества.

2.2. Состав набора

- Фиксатор-краситель.
- Фосфатный буфер (сухая смесь).

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Форменные элементы крови должны иметь следующую окраску:

эритроциты – розовый или розовый с серым оттенком цвет;

лейкоциты:

нейтрофилы — ядра - фиолетовый цвет, цитоплазма - бледно-розовый, или розовый, или розово-серый цвет, зернистость цитоплазмы - светло-фиолетовый цвет;

эозинофилы — ядра - фиолетовый цвет, цитоплазма - слабо-голубой цвет, зернистость цитоплазмы - оранжево-красный или кирпично-красный цвет;

базофилы — ядра - фиолетовый цвет, цитоплазма — бледно-розовый или светло-фиолетовый цвет, зернистость цитоплазмы — цвет от темно-фиолетового до черного;

лимфоциты — ядра - фиолетовый цвет, цитоплазма — голубой, или серо-голубой, или светло-синий, или серовато-синий цвет;

моноциты — ядра - светло-фиолетовый цвет, цитоплазма — серый или синевато-серый цвет;

тромбоциты:

грануломер — красновато-фиолетовый, или темно-фиолетовый или фиолетовый с серым оттенком цвет;

гяломер — голубой, или фиолетовый, или розовато-сиреневый или серосиний цвет.

Исследование лейкоцитарной формулы имеет большое значение в диагностике большинства гематологических заболеваний для оценки тяжести состояния и эффективности проводимой терапии.

4. Меры предосторожности при работе с набором.

Потенциальный риск применения набора — класс 2а.

В состав фиксатора-красителя входит метиловый спирт. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует 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, реагенты:

- рН-метр;
- микроскоп (Биомед-1);
- таймер;
- масло иммерсионное;
- стекла предметные;
- стекла со шлифованным краем;
- штатив («рельсы») для окраски мазков на предметных стеклах;
- кюветы для фиксаторов, красителей, отмывочных растворов;
- пинцет или щипцы для взятия предметных стекол с мазками;
- цилиндр мерный вместимостью 25 мл;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости от 1,0 мл до 2,0 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые пробы

Мазки крови, костного мозга и других препаратов.



7. Проведение анализа

7.1. Приготовление рабочих растворов реагентов

7.1.1. Приготовление фосфатного буферного раствора, pH 6,8-7,2

К содержимому флакона с фосфатным буфером (сухая смесь) добавить 25 мл дистиллированной воды, растворить при перемешивании. Полученный концентрат фосфатного буферного раствора смешать с дистиллированной водой в соотношении 1:200.

Концентрат фосфатного буферного раствора можно хранить при температуре (2-8) °С в течение 6 месяцев, при комнатной температуре (18-25) °С – не более 3-х месяцев в плотно закрытом флаконе.

Фосфатный буферный раствор можно хранить при температуре (2-8) °С в течение 3-х месяцев, при комнатной температуре не более месяца в плотно закрытом флаконе.

7.1.2. Приготовление рабочего раствора красителя

К 1 части фиксатора-красителя «Гемокрафикс» добавить 2 или 3 части фосфатного буферного раствора (см. п.7.1.1). Степень разбавления красителя установить опытным путём.

Рабочий раствор красителя стабилен при комнатной температуре в течение 8 часов.

7.2. Приготовление мазков крови

Мазки крови приготовить на предметных стеклах с помощью более узких стекол со шлифованным краем. Предметное стекло взять за длинные края и прикоснуться его поверхностью, отступив на 0,5-1,0 см от узкого края, к капле крови. Предметное стекло следует положить на стол или держать в левой руке за края. Правой рукой приставить стекло со шлифованным краем к предметному стеклу под углом 45° и подвести к капле крови до соприкосновения с ней. После того как кровь растечется по всему шлифованному краю, стеклом сделать скользящее движение справа налево, равномерно распределяя кровь на стекле тонким слоем, до тех пор, пока не будет исчерпана вся капля. Мазок должен занимать 2/3 поверхности предметного стекла, иметь четкие границы и заканчиваться «щеточкой» («метелочкой»). Толщина мазка зависит от величины угла между стеклами: чем острее угол, тем тоньше мазок. Правильно приготовленный мазок имеет желтоватый цвет и одинаковую толщину по всей поверхности.

Нельзя сильно нажимать на стекло, так как это может привести к повреждению форменных элементов крови.

После приготовления мазки крови необходимо быстро высушить на воздухе до исчезновения влажного блеска; при медленном высыхании может измениться морфология клеток.

7.3. Проведение анализа

Способ 1. На мазок, высушенный на воздухе, налить равномерным слоем фиксатор-краситель «Гемокрафикс» так, чтобы он покрыл всё стекло (~1,0 мл). Выдержать в течение 3 мин. После окончания фиксации на мазок с помощью пипетки налить двойное количество (~2 мл) фосфатного буферного раствора (п.7.1.1), следить за тем, чтобы фосфатный буферный раствор при смешивании с фиксатором-красителем не сливался с мазка, а распределялся равномерным слоем. Выдержать в течение 7-10 минут

Способ 2. Штатив с мазками поместить в кювету с фиксатором-красителем «Гемокрафикс». Выдержать в течение 3 мин. Далее смыть фиксатор-краситель водопроводной водой и поместить штатив с мазками в кювету с рабочим раствором красителя (п. 7.1.2). Выдержать в течение 7-10 минут.

Время окраски препаратов зависит от его клеточности. Время окраски для каждого препарата необходимо установить индивидуально.

По окончании окрашивания мазки промыть водопроводной водой, высушить на воздухе и микроскопировать с иммерсионной системой.



8. Регистрация результатов

Микроскопирование окрашенных препаратов производят с иммерсионной системой (объектив 90×, окуляр 10×).

9. Учет результатов реакций

Лейкоцитарную формулу (процентное соотношение различных видов лейкоцитов) подсчитывают в окрашенных мазках крови. Необходимо просчитывать не менее 100 лейкоцитов. Если при подсчете 100 лейкоцитов отмечаются какие-либо отклонения от нормы (например, увеличение числа палочкоядерных форм, эозинофилов, лимфоцитов или появление лейкоцитов, не обнаруживаемых у здоровых людей), необходимо подсчитать еще 100 лейкоцитов и вывести средний результат.

10. Условия хранения и эксплуатации набора

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

Срок годности – 1,5 года.

Фиксатор-краситель «Гемокрафикс» после вскрытия флакона можно хранить при комнатной температуре в плотно закрытом флаконе в течение всего срока годности.

Рабочий раствор красителя стабилен при комнатной температуре в течение 8 часов.

Фосфатный буферный (сухая смесь) можно хранить при комнатной температуре в течение всего срока годности.

Концентрат фосфатного буферного раствора можно хранить при температуре (2-8)°С в течение 6 месяцев, при комнатной температуре – не более 3-х месяцев в плотно закрытом флаконе.

Фосфатный буферный раствор можно хранить при температуре (2-8) °С в течение 3-х месяцев, при комнатной температуре (18-25) °С не более месяца в плотно закрытом флаконе.

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

По вопросам, касающимся качества набора «Гемокрафикс», 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 лабораторной
диагностики ГОУ ДПО РМАПО
Росздравнадзора, д.м.н., профессор

 В. В. Долгов

