

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів
13 липня 2012 р. **І.Б. Демченко**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами
І.П. Семенів 22 червня 2011р.
ТУ У 24.4-24607793-024:2011

REF № HP030.09

ІНСТРУКЦІЯ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ НАБОРУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ ЗАБАРВЛЮВАННЯ АЗУР - ЕОЗИНОМ ЗА РОМАНОВСЬКИМ (НАБІР «ЗАБАРВЛЮВАЧ ЗА РОМАНОВСЬКИМ»)

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для застосування як забарвлювач формених елементів крові при забарвленні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів в клініко-діагностичних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на проведення **2000 аналізів** (при витраті розчинів реагентів 0,5 мл на визначення).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 25 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяці від дня виготовлення.

Зберігати в захищеному від світла місці.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Принцип методу заснований на різниці в хімічному складі клітинної стінки мікроорганізмів.

Забарвлювач - розчин сухого барвника азур-еозину за Романовським в суміші спирту і гліцерину (1:1).

СКЛАД НАБОРУ

- 1 Розчин азур - еозину за Романовським - 1 флакон з (1000 ± 40) мл.
- 2 Додатково потрібний реактив Концентрат Промиваючого розчину (REF HP030.04.4). До складу набору не входить.

ОБЛАДНАННЯ

- 1 Раковина або спеціальний місткий лоток для фарбування.
- 2 Спеціальний штатив («рейки») для фарбування мазків на предметних стеклах.
- 3 Пінцет або щипці для узяття предметних стекол.
- 4 Газовий або спиртовий пальник для підігрівання препарату при фарбуванні.
- 5 Фільтрувальний папір розміром < 4 x 1,5 см для фарбування мазків.
- 6 Дистильована вода для промивання мазків.
- 7 Штатив для просушування забарвлених стекол на повітрі у вертикальному або похилому положенні.

ПРИГОТУВАННЯ МАЗКІВ КРОВІ

Предметне скло перед дослідженням знежирюють і роблять на ньому мазок. Мазок слід робити тонким, щоб клітини рівномірно розподілялися на поверхні скла і не утворювали скупчень.

Мазки крові зробити на предметних стеклах за допомогою вузького предметного шліфованого скла таким чином:

Узяти предметне скло за довгі краї і доторкнутися його поверхнею, відступивши на 0,5 - 1 см від вузького краю, до краплі крові (але не до шкіри). Предметне скло слід тримати на столі або в лівій руці за край.

Правою рукою приставити шліфоване скло вузьким краєм до предметного скла з кров'ю зліва від краплі під кутом 45° і просунути його управо до зіткнення з краплею крові. Почекаати до тих пір, поки кров розпливеться по всьому ребру шліфованого скла, і потім легким швидким рухом провести його справа наліво до тих пір, поки не буде вичерпана вся крапля. Крапля крові має бути невеликою і відповідною, щоб весь мазок поміщався на предметному склі, не доходячи 1-1,5 см до його краю. Сильно натискати на скло не можна, оскільки багато клітин крові можуть виявитися пошкодженими. Добре зроблений мазок тонкий, має жовтуватий колір і закінчується “мітелочкою”.

Після приготування мазок слід швидко висушити на повітрі до зникнення вологого блиску; при повільному висиханні може змінюватися морфологія клітин. Укласти препарати мазком догори на скляний місток для забарвлення.

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

1 Промиваючий розчин – 2 мл Концентрату промиваючого розчину перенести у мірну колбу місткістю 250 мл та довести до мітки дистильованою водою. Розчин стабільний 2 місяця при зберіганні при температурі від плюс 2 °С до плюс 25 °С у темряві. Отриманий розчин використовувати для розведення фарбника і промивання стекол.

2 Робочий розчин Романовського: безпосередньо перед визначенням розбавити **Розчин азур - еозин за Романовським Промиваючим розчином** в співвідношенні 1 : 10 – 1 : 15 та відфільтрувати. Отриманий розбавлений розчин можна зберігати протягом 6 годин.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Мазки необхідно зафіксувати метанолом або нерозведеним розчином фіксатора-забарвлювача за Май-Грюнвальдом протягом 5 хв, щоб він покрити весь мазок.

Після закінчення фіксації слід обполоснути препарати в **Промиваючому розчині**, 3 рази по 1 хв (в окремих ємностях).

Просушити зразки у вертикальному положенні протягом 5 хвилин.

Фарбувати **Робочий розчин Романовського** протягом 15 - 45 хв. Після закінчення цього часу препарати промити **Промиваючим розчином**, висушити на відкритому повітрі при кімнатній температурі у вертикальному або похилому положенні. Не слід промокати препарат.

Препарат досліджують в світловому мікроскопі.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

При правильному проведенні фарбування чітко виявляються всі відповідні клітини, які набувають індивідуального забарвлення і можуть бути ідентифіковані фахівцями.

В результаті, при правильному фарбуванні, забарвлення формених елементів крові має бути таким:

ЕРИТРОЦИТИ - рожеві, рожеві з сірим або бежевим відтінком, бежево-коричневі;

ТРОМБОЦИТИ – рожево - фіолетові або фіолетові;

ЯДРА ЛІМФОЦИТІВ, МОНОЦИТІВ І НЕЙТРОФІЛІВ - фіолетові;

ЦИТОПЛАЗМА ЛІМФОЦИТІВ - блакитна, сіро - блакитна або синьо - блакитна;

ЦИТОПЛАЗМА МОНОЦИТІВ – сіро - блакитна;

ЦИТОПЛАЗМА НЕЙТРОФІЛІВ – блідо - рожева або рожево - сіра;

ЗЕРНИСТІСТЬ НЕЙТРОФІЛІВ - фіолетова або червоно - фіолетова;

ЗЕРНИСТІСТЬ ЕОЗИНОФІЛІВ – оранжево - червона, рожево - червона або рожево - фіолетова;

ЗЕРНИСТІСТЬ БАЗОФІЛІВ - фіолетова.

ДЖЕРЕЛА ПОМИЛОК

1 Нерівномірний розподіл мазків крові по поверхні предметного скла може привести до неправильного підрахунку клітин.

2 Використовуваний для протирання шкіри етиловий спирт може стати причиною гемолізу і появи артефактів.

3 Не допускайте висихання на якій-небудь стадії процедури.

4 Ретельно промивайте для того, щоб уникнути артефактів забарвлення. Промивання препаратів необхідно здійснювати тільки в **Промиваючому розчині**.

5 Результати забарвлення залежать від рН. Лужне рН підсилює синій, а вміст кислоти - червоний відтінки.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Необхідне застосування спеціального захисного одягу і рукавичок. Необхідно уникати попадання мікроорганізмів в оточуюче середовище. Треба ретельно дотримуватися спеціальних інструкцій та техніки безпеки.

Розчин **Азур - еозин за Романовським** є легкозаймистим. Проявляє токсичні властивості і може викликати сильні небезпечні необоротні явища при вдиханні пари, при контакті з шкірою і при заковтуванні. Зберігайте флакони щільно закритими. Не тримайте розчини поблизу джерел займання, не палити. При відчутті нездужання або при нещасному випадку – негайно зверніться до лікаря, по можливості пред'явивши йому етикетку забарвлювача.

УТИЛІЗУВАННЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЛІТЕРАТУРА

Dacie J. and Lewis S. Practical haematology. Churchill Livingstone, London, 1995



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,

Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32

Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34

Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54

E-mail: felicit_d@ua.fm http://www.felicit.com.ua