

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

Код за НК 024:2019 – **43203**

REF № **HP021.01**

ТУ У **24.4-24607793-018-2003**

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ТИМОЛОВОЇ ПРОБИ З СИРОВАТКОЮ КРОВІ

IVD

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір призначений для проведення тимолової проби з сироваткою крові людини в клініко-діагностичних та біохімічних лабораторіях і науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **228 макро-, 457 напівмікро- або 915 мікровизначень** (Див. *Примітку 2*).

Діапазон визначаемого помутніння – від 0 од. S-N до 20 од. S-N (Shank та Hoagland).

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 10 %.

Чутливість ⁷ на 0,001 од. оптичної щільності – не більше 0,03 од. S-N (630 нм).

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 16 °С.

Гарантійний термін придатності набору - 24 місяця від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування in vitro тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Патологічно високі β-глобуліни, γ-глобуліни та ліпопротеїни осаджуються з сироватки крові при рН 7,55 буферним розчином з великим вмістом тимолу. Вимірюють інтенсивність помутніння, яке залежить від вмісту білкових фракцій та їх кількісного співвідношення.

СКЛАД НАБОРУ

- Тимоловий реагент -1 флакон з (16,5 ± 1,5) мл;
 - тимол (7,89 ± 0,50) %;
 - спирто-альдегідна фракція (55,05 ± 2,50) %;
 - малеїнова кислота (1,43 ± 0,10) %;
 - тріс-(гідроксиметил)-амінометан (4,05 ± 0,20) %.
- Розчин хлориду барію (48 ± 2) ммоль/л - 1 ампула з (5,0 ± 0,3) мл;
- Концентрат розчину порівняння 1 - 1 флакон з (11,0 ± 0,5) мл.

ЗРАЗОК

Сироватка крові, вільна від гемолізу та нехільозна.

Зразки стабільні при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С 2 доби.

ОБЛАДНАННЯ

- Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі (**630-690**) нм у діапазоні (0 – 1) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм або 5 мм.
- Колби мірні місткістю 250; 100 та 50 мл (згідно з чинними нормативними документами).
- Пробірки місткістю 20 мл (згідно з чинними нормативними документами).
- Піпетки місткістю 0,1; 5 та 10 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

- Тимоловий реагент.** До термостійкої колби місткістю **100** мл наливають **90** мл дистильованої води, доводять до кипіння, опускають носик піпетки у воду та при постійному перемішуванні вносять **1,5** мл **Тимолового реагенту**. Розчин охолоджують, кількісно переносять до мірної колби на **100** мл, доводять до мітки дистильованою водою та перемішують ще **10 хв**. Якщо випав осад, розчин підігрівають до температури від плюс 40 °С до плюс 50 °С до повного розчинення осаду. Розчин використовують при температурі не нижче плюс 20 °С, рН=(7,55 ± 0,05). При необхідності рН корегується 0,1 Н розчинами HCl або NaOH. Розчин стійкий при зберіганні протягом місяця при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С.
- Розчин порівняння 1.** До мірної колби місткістю **250** мл піпеткою відміряють **10,0** мл **Концентрату розчину порівняння 1** з флакону, доливають охолодженою до температури плюс 8 °С дистильованою водою до мітки та перемішують.
- Розчин порівняння 2.** До мірної колби місткістю **50** мл піпеткою додають **1,5** мл розчину хлориду барію та доливають до мітки **розчином порівняння 1**, охолодженим до температури плюс 10 °С. Вміст колби ретельно перемішують.
- Розчини 2-3** стійкі при зберіганні протягом декількох місяців при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С.

ДІАГНОСТИЧНА ІНФОРМАЦІЯ

Тимолова проба призначена для функціонального дослідження печінки.

Вона позитивна в 99-100 % випадків хвороби Боткіна (вже в переджовтяничній її стадії і при безжовтяничній формі), при токсичному гепатиті, післягепатитному і постнекротичному цирозі, при колагенових захворюваннях, малярії і вірусних інфекціях.

При механічній жовтяниці вона (у 75 % випадків) негативна, і стає позитивною лише у разі ускладнення паренхимотозним гепатитом.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ПОБУДОВА КАЛІБРУВАЛЬНОГО ГРАФІКА

З розчинів порівняння 1 і 2 готують ряд розведень за таблицею 1, які відповідають (1-15) одиницям помутніння за Shank та Hoagland (S-H).

Стандартні розчини змішують у пробірці, **витримують точно 30 хв**, ретельно струшують та відразу фотометрують проти дистильованої води.

Таблиця 1

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Розчин порівняння 1 (мл)	5,7	5,4	5,1	4,8	4,5	3,0	1,5
Розчин порівняння 2 (мл)	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5	3,0	4,5
Одиниці помутніння (S-H)	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	10,0	15,0

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною в таблиці 2.

Таблиця 2

Відміряти в пробірці, мл	Дослідна проба			Холоста проба		
	Мікро	Напівмікро	Макро	Мікро	Напівмікро	Макро
ЗРАЗОК	0,02	0,04	0,08	0,02	0,04	0,08
Тимоловий реактив	1,20	2,40	4,80	-	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	-	1,20	2,40	4,80

Перемішують, витримують точно **30 хв** (при температурі від плюс 15 °С до плюс 25 °С), **ретельно струшують та відразу** вимірюють оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл.}}$) **проти Холостої проби**. Ступінь помутніння знаходять за калібрувальним графіком. Фотометрування - див. розділ «Обладнання».

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями, визначеними даним методом. Наприклад: "ФілоНорм" або „ФілоПат" (Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

НОРМАЛЬНІ ВЕЛИЧИНИ

(0 - 4) одиниць S-H.

Дані величини орієнтовні, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

ПРИМІТКИ

- Для приготування робочих розчинів та для проведення проби необхідно використовувати чистий посуд без слідів синтетичних миючих засобів.
- Розраховано на загальний об'єм реакційної суміші: 4,88 мл (макро-), 2,44 мл (напівмікро-), 1,22 мл (мікро-). Витрату реактивів можна масштабувати, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення: Тимоловий реактив : Аналізуємий розчин = 60 : 1**

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

- При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
- Концентрат розчину порівняння 1 включає сірчану кислоту (їдка речовина). Тимоловий реагент включає тимол (їдка речовина). Хлорид барію - отруйна речовина.

УТИЛІЗАЦІЯ

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

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

ЛІТЕРАТУРА

- Maclagan N.F.: Nature 154, 670 (1944).
- Maclagan N.F.: Brit. J. Exper. Path. 23, 234 (1944).
- Reinhold J.G.: Clin. Chem. 8, 475 (1962).
- Tilsner V.: Artzl. Lab. 10, 149 (1964).
- Chromi V., Gregorek J.: Cs. patent 148200.
- Chromi V., Hornakova M., Tovarek J.: Bioch. clin. bohemoslov. 3, 115 (1974).
- IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 м. Дніпро, 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: filicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>