

«ПОГОДЖЕНО»

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

Код за НК 024:2023 – 44946

REF № HP030.09

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами
І.П. Семенів 22 червня 2011р.

ТУ У 24.4-24607793-024:2011

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

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

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* тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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 фосфатного буферу (REF HP030.11).
3. Додатково потрібний реактив *Імерсійна олія для мікроскопії* (REF HP060.01 або REF HP060.02). 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 взяття 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 (згідно з чинними нормативними документами).
7. Штатив для просушування забарвлених стекол на повітрі у вертикальному або нахиленому 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:

Взяти 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 направо до зіткнення з краплею крові. Почекати 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** – 5 мл Концентрату фосфатного буферу перенести у мірну колбу місткістю 1000 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 забарвлювача і промивання стекл.

2. Робочий розчин Романовського: безпосередньо перед визначенням розбавити **Розчин азур – еозину 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 покрив 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 **Робочим розчином Романовського** протягом 15 - 45 хв. Після закінчення цього часу препарати промити **Промиваючим розчином**, висушити на відкритому повітрі при кімнатній температурі у вертикальному або нахиленому 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 - еозину 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.

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

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



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: felicit@ukr.net <http://www.felicit.com.ua>