

**Медициналық мақсаттағы бұйымды медицинада
қолдану жөніндегі нұсқаулық**

1. МЕДИЦИНАЛЫҚ МАҚСАТТАҒЫ БҰЙЫМНЫҢ АТАУЫ

Қақырықты клиникалық талдауға арналған «Клиника-Қақырық» реагенттер жинағы

2. БҰЙЫМНЫҢ ҚҰРАМЫ МЕН СИПАТТАМАСЫ

Цилло-Нильсен бойынша карболды фуксин - 2 құты (100 мл-ден);

Күкірт қышқылы, 25 % көлем. - 2 құты (100 мл-ден);

Метиленді көк, 1 % - 2 құты (100 мл-ден);

Темірлі көк текті калий, 5 % - 1 құты (10 мл);

Тұз қышқылы, 5 % - 1 құты (10 мл);

Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғышы - 1 құты (100 мл);

Романовский бойынша азур-эозин бояғышы - 1 құты (100 мл);

Фосфатты буфер (құрғақ қоспа) – 1 құты (2 л-ге).

Сүзгі қағаз өлшемі 4,5×2,5 см - 200 жолақ.

Жинақ емдеу-профилактикалау мекемелерінің клиникалық-диагностикалық зертханаларында қақырықтың бактериоскопиялық және микроскопиялық зерттеуін жүргізуге арналған.

Жинақ қышқылға төзімді микобактерияларды (ҚТМ) анықтау кезінде 200 сынама, гемосидерині бар альвеолярлы макрофагтарды табу кезінде 100 сынаманы, қатерлі ісікті жаңа түзілістерді анықтау кезінде 300 сынама жүргізуге есептелген.

3. ӨНДІРУШІ ҰЙЫМНЫҢ АТАУЫ ЖӘНЕ (НЕМЕСЕ) ТАУАРЛЫҚ БЕЛГІСІ

«ЭКОлаб» ЖАҚ, Ресей

4. ҚОЛДАНЫЛУ САЛАСЫ

Емдеу-профилактикалау мекемелерінің клиникалық-диагностикалық зертханалары.

«Тек клиникалық сынақтар үшін»

5. ҚОЛДАНУ ТӘСІЛІ

Тәсілдің принципі

Қышқылға төзімді микобактерияларды табу

Қышқылға төзімді микобактерияларды Циль-Нильсен бойынша бояу тәсілі бірнеше арнайы әдістемелік тәсілді пайдалануға негізделген:

- Фуксинмен (қыздырумен) бояу – қыздырудың және фенолдың (карбол қышқылының) дәрілік өндегіш әсерінің бір мезгілде әсер етуі кезінде бояғыштың микробтық жасушаға және әсіресе оның липидтерден, миколды қышқылдар мен балауыздардан тұратын жасушалық қабырғасының құрылымдарына өту қабілеті артады. Қышқылға төзімді микобактериялар фуксин әсерімен қызыл түске боялады.

- Түссіздену. Фуксин қышқылының 25 %-дық ерітіндісімен боялған препараттарды өндеу құрылымдарға өткен, жеткілікті гидрофобтыққа және қышқылда ыдырауға (қышқылға төзімділікке) ие емес бояғыштың түссізденуіне әкеледі. Түссізденуден кейін таңқурай тәрізді-қызыл түске боялғаннан кейін тек қышқылға төзімді микроорганизмдер қалады. Сапрофитті микроорганизмдер соның ішінде фуксинмен боялғандары түссізденеді.

- Контрастыланатын бояу – жағындының түссізденген элементін ҚТМ –ді іздегенде препаратқа төзімділікті беру үшін қосымша бояйды.

Гемосидерині бар альвеолярлық макрофагтарды анықтау

Гемосидериннің жасуша ішілік орналасқан аморфты кристалдары (сары түсті темірдің тотықтары) нативті препаратқа енгізген кезде темір текті калий ерітіндісінің қақырықтары мен тұз қышқылының ерітінділері берлин лазурін - көгілдір түске немесе көк-жасыл түске боялған қосылыстарды түзе отырып реакцияға түседі.

Өкпедегі қабынбалы және қатерлі ісікті үдерістерге тән жасушаларды табу.

Тәсіл Май –Грюнвальд және Романовский типіндегі азур – эозинді бояғыштардың қақырықтың жасушалық элементтеріне әсер етуіне негізделген. Жасушалар әртүрлі: ядролары күңгірт-күлгін түске; ядрошықтары – көгілдір түске; цитоплазмасы оның қандай да бір немесе басқаша түске жатуына байланысты қызғылттан- сұрға, бозғылт-көгілдірден көкке дейінгі түске енеді.

Жинақтың талдамалық және диагностикалық сипаттары

Қышқылға төзімді микобактериялар (ҚТМ)

Жағындылардың Циль-Нильсен бойынша боялуында түстік микроскопия шектері олар 1 мл қақырық құрамында 5000 – 10000 және одан көбірек болғанда қышқылға төзімді микроорганизмдерді анықтауға мүмкіндік береді, бұл үдерістің арта түсетін формасы бар науқастарға тән. Өкпе тінінің деструкциясы жоқ ауырудың шағын формасы бар науқастар ҚТМ едәуір аз мөлшерін бөліп шығарылады, бұл осы тәсілмен анықтау шегінен төмен болуы ықтимал. Пациентті тексеру дүркіндігін арттыра түсіп тәсілдің сезімталдығын арттыруға болады.

Микроскопияның теріс нәтижесі туберкулездің диагнозын жоққа шығармайды.

Гемосидерин – қан айналым кіші шеңберінің іркілісінде, өкпедегі басқа этиологиядағы іркілісті құбылыста, өкпе инфарктында, қан құйылуында, крупозды пневмонияда және т.б. кездері қақырықтан анықтайды.

Қатерлі ісікті жаңа түзілістер мен қабыну үдерістерінің жасушалары

Ядро мен жасуша көлемі мен түсі, бұзылған ядро – цитоплазмалық арақатынасы, жасушадағы ядро саны, ядрошықтардың болуы мен шамасы, сондай-ақ басқа да критерийлері қатерлі ісікті жасушаларды анықтауға мүмкіндік береді. Қатерлі ісікті жасушалар нейтрофилдер, альвеолярлы макрофагтар, моноциттер, цилиндрлік жыпылықтайтын эпителий сияқты жасушалық элементтер, ал аллергиялық үдерісте - Куршман спиралі мен Шарко-Лейден кристалдары сияқты эозинофилдер мен жасушалық емес элементтер аясында орналасады.

Жабдықтар, материалдары, реагенттер:

- жағындыларды құрғату мен бояға арналған астаушалар;
- препаратты бекемдеуге және карболды фуксинмен бояғанда қыздыруға арналған спиртті немесе газ жалындатқыштар;
- тігінен немесе еңкейген күйінде шыныларды ауада құрғатуға арналған штатив;
- заттық шыныдағы жағындыларды бояуға арналған штатив («рельстер»);
- бекемдеуге және бояуға арналған штатив;
- препарат бар заттық шыныдан алуға арналған пинцет немесе қысқаштар;
- көз пипеткалары; шыны таяқшалар
- заттық шынылар;
- микроскоп;
- таймер;
- Петри табакшалары;
- Сүзгі қағаз;
- дистилляцияланған су;
- иммерсиялық май;
- резеңке немесе пластик қолғаптар.

Талданатын сынамалар

Қақырық пен басқа да кейбір материалдар (экссудат, жағындылар – биопсиялық және операциялық материалдар таңбалары).

Циль – Нильсен тәсілі бойынша боялу үшін қақырықты сақтау мерзімі бөлме (18-25) °С температурасында 48 – 72 сағат ішінде.

Қабыну және/немесе жаңа түзілісті анықтау мақсатындағы материал жаңа алынған болуы керек. Сақтау мерзімі 2 сағаттан аспайды.

Зерттелетін материалдан дайындалған препараттар бөлме температурасында 3-5 күндей сақтала алады.

Талдаманы жүргізу

Реагенттің жұмыс ерітінділерін дайындау

Фосфатты буферлік ерітіндіні дайындау, рН 6,8-7,2

Фосфатты буферді дайындау үшін реактивтердің құрғақ қоспасы бар құтының ішіндегісіне 20 мл дистилляцияланған су қосып, араластыра отырып еріту керек.

Алынған концентратты дистилляцияланған судың 2 л-не қосып, араластыру керек.

Буферлік ерітіндінің аздаған мөлшерін дайындау үшін алынған концентратты дистилляцияланған сумен 1:100 арақатынасында араластыру керек.

Фосфатты буферлік ерітіндінің концентратын (2-8) °С температурада бір жыл бойы сақтауға болады.

Фосфатты буферлік ерітіндіні тығыз жабылған құтыда (2-8) °С температурада 3 ай, ал (18-25)°С бөлме температурасында бір айдан астам сақтауға болады.

Романовский бойынша азур-эозин бояғышы жұмыс ерітіндісін дайындау

Романовский бойынша азур-эозин бояғышын фосфатты буферлік ерітіндімен 1:10 арақатынасында сұйылту керек (7.1.1 тармағын қараңыз).

Романовский бойынша азур-эозин бояғышының жұмыс ерітіндісі бөлме температурасында 8 сағат бойы тұрақты.

Қолдануға дайын реагенттер:

- Циль-Нильсен бойынша карболды фуксин;
- күкірт қышқылы, 25 % көлем;
- метиленді көк, 1 %;
- темірлі көк текті калий, 5 %;
- тұз қышқылы 5 %;
- Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғыш.

Реагенттерді бөлме температурасында тығыз жабылған құтыларда, жарықтан қорғалған жерде, жинақтың бүкіл жарамдылық мерзімі ішінде сақтауға болады.

Талдаманы жүргізу

Қышқылға төзімді микобактерияларды анықтау

Нативті қақырықтан препараттарды дайындау

Қақырықтың әртүрлі бөліктерінен 2-3 кішілеу іріңді түйірлерді алу, жаңа (сырылмаған) заттық шыныға көшіру және басқа заттық шыны бұрышының көмегімен заттық шынының бір немесе басқа жиегіне шамамен 2×2 немесе 1,5×2 көлемінде дөңгелек немесе сопақ шеңбер түрінде жұқа қабатпен біркелкі етіп жағады.

Ескертпе: Микроскопиялық зерттеуге арналған препаратты дайындау кезінде оның дұрыс қалыңдығына қол жеткізу керек. Тым жұқа жағынды жалған теріс нәтижеге әкелуі мүмкін. Тым қалың жағындыны жақсы бекемдеу, бояу қиын болады. Бояу аяқталғанда шыныда жеткіліксіз тығыз бекемделмеген материалды сумен ішінара немесе толық жуып тастауға болады. Қалың препарат микроскопиялық тексеріс кезінде нашар көрінетін болады.

Қақырықты екі заттық шыны аралығында «созудың» немесе қақырықты екі заттық шыны арасында жағудың көмегімен препараттарды дайындау ұсынылмайды. Қақырық препараттарын дайындаудың бұл тәсілдері биологиялық қауіпті аэрозольдің түзілуімен қатар жүреді инфекция жұқтырған материалмен заттық шыны жиектерін ластайды.

Жағындыларды бекемдеу

Дайындалған препараттарды сүзгі қағаздар төселген астаушаға салу және бөлме температурасында 15-30 минут құрғату керек.

Ауада құрғаған препаратты спиртті немесе газды жалын үстінде бекемдеу керек. Ол үшін құрғақ препарат бар шыныны жалынның үстіңгі үштен бір бөлігінен шынының терлеу белгісі кеткенше үш рет баяу тигізіп өту керек. Препараттың жалында болуының жалпы ұзақтығы 3-5 секундтан аспауы тиіс.

Жалын үстімен қақырықтың дымқыл препараттарын бекемдеуге жол берілмейді.

Препараттарды бояу

Бекемделген препарат бар заттық шыныларды бояу үшін штативке олардың арақашықтығы шамамен 1 см құрайтындай етіп орналастыру керек.

Әрбір шыныға сүзгі қағаз жолағын ол тек препаратты ғана толық жабатындай етіп қою керек. Бұл бояудың әрі қарай бүкіл шыны бетіне таралуын болғызбайды.

Пипетканың көмегімен Циль-Нильсен бойынша карболды фуксин ерітіндісінің артығы бар қағазға құю керек.

Препарат бар шыныны жалынға енгізу және будың пайда болуын күту керек, бұл препараттағы Циль-Нильсен бойынша карболды фуксин қақырығының қайнағанын білдіреді.

Бұл емшараны тағы бір рет қайталау керек.

Ескертпе: Препаратты қыздыру кезінде Циль-Нильсен бойынша карболды фуксинмен суланған сүзгі қағаздың үшінші емшараның аяғына дейін ылғал болып қалуы қадағалау керек. Қақырық препаратының үстінен будың үш мәрте пайда болуында ҚТМ липидті қабығының орнықты боялуы жүреді

Бояғыштың микобактериялар жасушалық жүйесіне өтуі және оны бояуы үшін қыздырылған жағындыны 3-5 минутқа қалдырады.

Пинцеттің көмегімен сүзгі қағазды алып тастау керек.

Заттық шынының артқы жағынан бояудың қалдығын суық судың ағынымен фуксиннің кеткені көрінетіндей болғанша абайлап жуып тастау керек.

Препарат бар шыныны қайтадан «рельске» қою керек.

Препараттың бүкіл беткейін 25 %-дық күкірт қышқылымен (түссіздендіретін ерітіндімен) 3 минут, яғни толық түссізденуге дейін жабу керек.

Күкірт қышқылын заттық шынының артқы жағынан суық сумен мұқият жуу керек.

Препаратқа 1% метиленді көктің ерітіндісін 1-2 минут құю керек.

Метиленді көкті заттық шынының артқы жағынан суық сумен жуып тастау керек.

Боялған препаратты бөлме температурасындағы тігінен немесе қиғаш күйінде ауада құрғату керек.

Препаратты сүзгі қағазбен сулауға болмайды.

Иммерсионды жүйемен микроскоптау керек.

Гемосидерин бар альвеолярлық макрофагтарды анықтау

Цитоплазмасында құрамында гемосидериннің аморфты кристалдарының болуына күдік туындаған жекелей ірі және көптеген ұсақ қосылыстары бар, сарғыштау қоңыр түсті альвеолярлық макрофагтар анықталған қақырықтың нативті препаратынан микроскоптың аздап ұлғайтуымен жабын шыныны абайлап алу керек. Препаратқа темір текті көк калий 5% ерітіндісінің («сары қан тұзының») тамшысын жағу, жабынды шыны бұрышымен қақырықпен араластыру, көлемі дәл сондай 5 % тұз қышқылын қосу, қайта араластыру және жабынды шынымен жауып қою керек. 10-15 минут ұстау және аздап ұлғайту микроскоппен қарау керек.

Қабынбалы және қатерлі ісікті жаңа түзілістерге тән жасушалық элементтерді анықтау

Қақырықтың нативті препараттарын - Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғыш-бекемдегішпен бекемдейді, ал одан кейін Романовский бойынша азур-эозин жұмыс ерітіндісімен жеткізе бояйды.

Ауада құрғатылған препаратқа Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғышты ол бүкіл шыныны жабатындай етіп (1-1,5 мл) құю немесе Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғыш бар ыдысқа батыру, 3-5 минут бойы ұстау керек. Бекемдеу аяқталғаннан кейін бояғышты қақырық препараты бар заттық шынының артқы жағы беткейінен судың ағынымен жуып тастау керек.

Қақырықтың бекемделген препараты бар шыныны «рельстерге» қайта қою Романовский бойынша 2 – 2,5 мл Азур-Эозин бояғышының жұмыс ерітіндісін ол бүкіл жағындыны жабатындай етіп құю немесе препараттарды бояуға арналған ыдысқа батыру керек.

Препараттарды бояу уақытын алдын ала бірнеше мәрте бекемделген жағындыларда таңдау керек: экссудат 7 – 10 мин, қақырық 30 – 40 мин.

Бояу аяқталғаннан кейін препаратты төгу және препаратты құбырдың суық суымен оны заттық шынының келесі жағына бағыттап отырып жуу керек. Препаратты ауада құрғату және иммерсионды жүйемен микроскоптау керек.

Нәтижелерді тіркеу

Нативті препараттардың микроскопиясын микроскоптың аздаған (объектив 8×, окуляр 10×) және үлкен (объектив 40×, окуляр 10×) ұлғайтуында жүргізу керек.

Боялған препараттарды микроскоппен қарауды иммерсионды жүйемен (объектив 90×, окуляр 10×) жүргізу керек.

Реакция нәтижелерін есептеу

Қышқылға төзімді микобактериялар (ҚТМ)

ҚТМ қабықшасы Циль – Нильсен бойынша фуксинмен күрең-қызыл түске боялады, ал басқа микроорганизмдер мен жасушалық элементтер күкірт қышқылымен түссізденеді және метиленді көкпен - көгілдір түске боялады.

Циль – Нильсен тәсілі бойынша боялу кезінде микроскоппен зерттеу нәтижелерінің градациясы:

Зерттеу нәтижелері	Міндетті түрде қаралатын көру алаңдарының (к/а) саны	Зерттеу нәтижелерін интерпретациялау
ҚТМ - анықталмаған	300	Теріс
ҚТМ - 1 - 2	300	Нәтиже бағаланбайды, зерттеуді қайталау ұсынылады
ҚТМ - 1 - 9	100	Оң, ҚТМ дәл саны көрсетіледі
ҚТМ - 10 - 90	100	Оң - 1+ - көру алаңында жекелей ҚТМ
ҚТМ - 1 - 10 1 п/з-да	50	Оң - 2+ - ҚТМ-ың орташа саны
10 көп ҚТМ 1 п/з-да	20	Оң - 3+ - ҚТМ-ың елеулі саны

Гемосидерин – құрамында гемосидерин (сары түсті темір тотықтары) бар альвеолярлы макрофагтар тұз қышқылында темір текті калиймен реакция нәтижесінде көк немесе көк-жасыл түске боялады.

Қатерлі ісікті жаңа түзілістер жасушалары – бұл жасушалардың морфологиясын цитологиясы (олардың өлшемдерінің полиморфизмі, ядролық-цитоплазмалық арақатынасының ядроның ұлғаю тарапына қарай бұзылуы, ядро формасының өзгеруі, онда формасы дұрыс емес көпеген ядрошықтардың, жасушалар митозының болуы) жөніндегі басшылыққа алу ережесі бойынша анықтау керек

Қабыну жасушалары – миелині бар альвеолярлы макрофагтар («тозаңды жасушалар»), гистиоциттер, моноциттер, эозинофилдер, цилиндрлік эпителий және т.б. Бұл жасушалардың морфологиясын және түзілуін гематология және цитология жөніндегі басшылыққа алу ережесі бойынша анықтау керек.

6. МЕДИЦИНАЛЫҚ МАҚСАТТАҒЫ БҰЙЫМДЫ ИДЕНТИФИКАЦИЯЛАУ ҮШІН ПАЙДАЛАНУШЫҒА ҚАЖЕТТІ ДЕРЕКТЕР.

Каталогтық нөмірі - 38.05 (жиынтық)

7. МЕДИЦИНАЛЫҚ МАҚСАТТАҒЫ БҰЙЫМҒА ЖИЫНТЫҚТАҒЫШТАР ТІЗБЕСІ «ЖИЫНТЫҚТАЛЫМЫ»:

Жиынтық

Циль-Нильсен бойынша карболды фуксин - 2 құты (100 мл-ден);

Күкірт қышқылы, 25 % -дық көлем. - 2 құты (100 мл-ден);

Метиленді көк, 1 % - 2 құты (100 мл-ден);

Темір тектес көк калий, 5 % - 1 құты (10 мл);

Тұз қышқылы, 5 % - 1 құты (10 мл);

Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғыш

- 1 құты (100 мл);

Романовский бойынша азур-эозин бояғышы - 1 құты (100 мл);

Фосфатты буфер (құрғақ қоспа) – 1 құты (2 л-ге).

Сүзгі қағаз өлшемі 4,5×2,5 см - 200 жолақ.

8. САҚТАУ ШАРТТАРЫ

Жинақ дайындаушы кәсіпорынның қаптамасында бөлме (18-25)°С температурасында жарықтан қорғалған жерде бүкіл жарамдылық мерзімі ішінде сақталуы тиіс.

Романовский бойынша Азур-Эозин бояғышының жұмыс ерітіндісі бөлме температурасында 8 сағат бойы тұрақты.

Фосфатты буферлік ерітіндінің концентратын (2-8)°С температурада бір жыл бойы сақтауға болады.

Фосфатты буферлік ерітіндіні (2-8)°С температурада 3 ай бойы, тығыз жабылған құтыда бір айдан асырмай сақтауға болады.

Сенімді нәтижелерді алу үшін жинақты қолдану жөніндегі нұсқаулықты қатаң сақтау керек.

9. ЖАРАМДЫЛЫҚ МЕРЗІМІ

Жарамдылық мерзімі – дайындалған күннен бастап 1 жыл (12 ай).

«Жарамдылық мерзімі өткеннен кейін қолдануға болмайды»

10. САҚТЫҚ ШАРАЛАРЫ

Жинақты қолданудың әлеуетті қаупі – 2а класы.

Жинақтың құрамына фенол, фуксин, метиленді көк, темір тектес көк калий, Май-Грюнвальд бойынша эозин-метиленді көк бояғышы, Романовский бойынша азур-эозин бояғышы, күкірт қышқылы мен тұз қышқылы кіреді. Олармен жұмыс

істеген кезде сақ болу және тері мен шырыштарға түсуіне жол бермеу керек; тиген кезде зақымданған жерді дереу мол мөлшердегі ағынды сумен жуу керек. Жұтып қойған кезде 0,5 л жылы су ішу және құсу керек.

Биологиялық жинақ қауіпсіз, алайда тексерілетін үлгілерді әлеуетті инфекция жұқтырған материал ретінде күтіп ұстау керек.

Сақтық шаралары – құрылғыны ережесін, техникалық қауіпсіздік, өндірістік санитария ережелерін, індетке қарсы және санитарлық-эпидемиологиялық мекемелердің зертханаларында (бөлімшелерінде, бөлімдерінде) жұмыс істеген кездегі жеке гигиена режимін сақтау керек.

Реагенттер жинақтарын утилизациялау мен дезинфекциялауды Қазақстан Республикасында утилизациялауды немесе жоюды реттейтін ережелерге және нормаларға сәйкес жүргізу керек.

11. ОСЫҒАН СӘЙКЕС МЕДИЦИНАЛЫҚ БҰЙЫМ ӨНДІРІЛГЕН НОРМАТИВТІК ҚҰЖАТ

Қақырықты клиникалық талдауға арналған «Клиника-Қақырық» реагенттер жинағының техникалық шарттары - ТШ 9398-078-70423725-2007.

Қақырықты клиникалық талдауға арналған «Клиника-Қақырық» реагенттер жинағының сапасы жөніндегі мәселелер бойынша хабарласатын мекенжайы:

Ресей Федерациясындағы өндіруші «ЭКОлаб» ЖАҚ мекенжайы: 142530, Мәскеу облысы, Электрогорск қ-сы, Буденный к-сі, 1 үй, тел. (49643) 3-23-11- тарату бөлімі, 3-30-93- ОБТҚ, факс 3-31-43.

Қазақстан Республикасының аумағында тұтынушыдан сапасы жөніндегі мәселелер бойынша шағымдарды қабылдайтын ұйымның мекенжайы:

Қазақстан Республикасындағы дистрибьюторы «ЭКОлаб KZ» ЖШС, мекенжайы: 070019, Өскемен қ-сы, Буров к-сі, 53 №1 кеңсе, тел/факс 26-21-55, тел. 21-23-52.