



Інструкція з використання набору реагентів для визначення тимолової проби в сироватці і плазмі крові ТИМОЛОВА ПРОБА СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Принцип методу

Сироваткові бета-глобуліни, гама-глобуліни та ліпопротеїни осаджуються при рН 7.55 тимоловим реагентом. Залежно від кількості та взаємного співвідношення окремих білкових фракцій при реакції виникає помутніння, інтенсивність якого вимірюють турбідиметрично.

Клінічне значення

Тимолова проба - осадова проба, що оцінює білково-синтетичну функцію печінки. При гепатиті А тимолова проба значно підвищена, причому максимально в ранні терміни жовтяничного періоду. При гепатиті В показник тимолової проби в більшості випадків в межах норми. Підвищення показників реєструється при посттрансфузійних гепатитах, важкому гепатиті В з наявністю гепатодистрофії, при дельта-гепатиті, а також при деяких інших інфекційних (мононуклеоз) і неінфекційних захворюваннях шлунково-кишкового тракту (наприклад, панкреатит).

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** Концентрований розчин тимолу.
2. **Реагент 2.** Сірчана кислота – 2.5 моль/л.
2. **Реагент 3.** Барію хлорид – 48 ммоль/л.
3. Інструкція з використання.
4. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 2 - 20 S-H.
Відхилення від лінійності не перевищує 10 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 г/л та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 2 S-H.
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 10 %.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 620-660 нм
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 хвилин.

Робочий реагент. До мірної колби місткістю 1000 мл налити приблизно 900 мл дистильованої води та при постійному перемішуванні магнітною мішалкою піпеткою поступово додати 15 мл **Р1**. Кінчик піпетки повинен бути занурений у воду в колбі. Після повного розчинення (15-20 хв.), довести дист. водою до мітки та перемішати ще 10 хв. Значення рН **РР** повинно дорівнювати 7.55 ± 0.05 при

температурі 25°C. При необхідності рН корегується 0.1 Н розчином НСІ або NaOH. Стійкий кілька місяців при кімнатній температурі.

Розчин 2. До мірної колби місткістю 250 мл відміряти 10 мл **Р2**, довести до мітки дистильованою водою охолодженою до 8°C. Стійкий кілька місяців при кімнатній температурі.

Розчин 3. До мірної колби місткістю 50 мл відміряти 1.5 мл **Р3**, довести до мітки Розчином 2 охолодженим до 10°C. Ретельно перемішати. Стійкий кілька місяців при кімнатній температурі.

Калібрувальна крива. З **Р2** і **Р3** приготувати розчини помутніння, що відповідають одиницям помутніння по Shank-Noagland (од. S-H). Відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

№	Розчин 2, мл	Розчин 3, мл	Одиниці помутніння, S-H
1	4.5	1.5	5
2	3.0	3.0	10
3	1.5	4.5	15
4	-	6.0	20

Перемішати, інкубувати 30 хв. Перемішати, виміряти оптичну щільність проти дистильованої води.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 630 нм (620-690)

кювета з товщиною оптичного шару 1 см

температура 15-25°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Холостий зразок 1	Холостий зразок 2	Дослідний зразок
РР, мл	3	-	3
Зразок, мл	-	0.05	0.05
Фіз. розчин, мл	0.05	3	-

Прим. Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

4. Перемішати, інкубувати протягом 30 хв.

5. Перемішати, виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка проти холостого зразка 1. Якщо проба сироватки хільозна, виміряти E проти контрольного зразка 2.

Розрахунок результатів

Визначити тимолове помутніння в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Тимолове помутніння 0 – 4 S-H

Гранічні значення 4 – 5 S-H

Патологічні значення більш 5 S-H

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «ERBA NORM, PATH» (Чехія). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикет-ці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C, в захищеному від світла місці та запобі-гати забруднення під час його використання.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності (12 міс.).



ТИМОЛОВА ПРОБА СПЛ

Ознаки погіршення реagentів

- Присутність часток і помутніння.

granumt.ua