

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

ООО «Эйлитон» - ООО «Юнимед-менеджмент»

от _____ 2011 г. № _____ -Пр/11

А.Н.Шибанов

_____ 2011 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для количественного определения активности липазы в сыворотке или плазме крови человека кинетическим методом «ЛИПАЗА - UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «ЛИПАЗА - UTS» предназначен для количественного определения активности липазы в сыворотке или плазме крови человека кинетическим колориметрическим методом в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях.

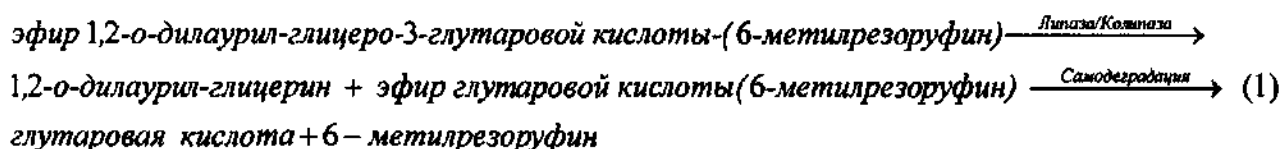
1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 200 (комплект 2); 400 (комплект 3) или 500 определений (комплект 4) при расходе 1,0 мл реагента 1 на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Синтетический субстрат липазы, эфир 1,2-о-дилаурил-глицеро-3-глутаровой кислоты-(6-метилрезорурфин) разлагается под действием липазы анализируемого образца и комбинации колипазы и желчных кислот, присутствующих в реагентах набора (реакция 1). Окрашенный продукт реакции, метилрезорурфин, поглощает свет при длине волны 580 нм.

Увеличение поглощения при этой длине волны прямо пропорционально активности липазы в анализируемом образце и регистрируется фотометрически.



2.2. Диагностическая значимость

Липаза вырабатывается в организме человека в основном в поджелудочной железе, а также в малых количествах в слюнных железах, слизистых оболочках желудка, легких и кишечнике. Липаза гидролизует сложные эфиры глицерина и жирных кислот. Определение липазы используется при диагностике расстройств поджелудочной железы, когда концентрация липазы возрастает в десятки раз. Повышенные уровни этого фермента также наблюдаются при закупорке протока поджелудочной железы.

2.3. Состав набора

Компоненты и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (P1) буферно- ферментный раствор	Трис	40 ммоль/л
	Колипаза	1 мг/л
	Дезоксихолат	1,8 ммоль/л
	Тауродезоксихолат	7,2 ммоль/л
Реагент 2 (P2) микроэмульсия субстрата	Тартратный буфер	15 ммоль/л
	Субстрат липазы	0,7 ммоль/л
	Кальция хлорид	0,1 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности липазы от 6 Е/л до 320 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

3.2. Чувствительность – не более 6 Е/л.

3.3. Воспроизводимость: коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Для калибровки фотометрических систем рекомендуется использовать сывороточные калибраторы, *аттестованные по значению активности липазы кинетическим колориметрическим методом.*

3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, *аттестованные по значению активности липазы кинетическим колориметрическим методом.*

3.5. Нормальные величины активности липазы в сыворотке или плазме взрослого человека составляют не более 59 Е/л [1].

3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. При работе с набором необходимо соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 580 (578-600) нм, термостатируемая при 37° ($\pm 0,5$ °C) кювета с длиной оптического пути 10 мм.
- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру 37° ($\pm 0,5$ °C).
- Секундомер.
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 10, 200 и 1000 мкл.
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).
- Вода дистиллированная или деионизированная.
- Перчатки резиновые или пластиковые.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Негемолизированная сыворотка или плазма крови. В качестве антикоагулянта использовать цитрат натрия, ЭДТА или гепарин.

6.2. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови стабильны в течение 5 дней при температуре +2-8 °C или 1 месяца при -20 °C. Избегать повторных замораживаний.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Реагенты 1 и 2 перед проведением анализа тщательно перемешать во флаконах, не взбалтывая.

7.2. Реагенты прогреть до температуры 37 °C.

7.3. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл		
	Холостая проба	Калибровочная проба	Анализируемая проба
Реагент 1	1000	1000	1000
Реагент 2	200	200	200
Дистиллированная вода	10		
Калибратор (мультикалибратор)		10	
Сыворотка или плазма крови			10

7.4. Пробы перемешать, включить секундомер и инкубировать при температуре 37 °С в течение 1 минуты.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к реагентам 1 и 2 составляет 1:20:100).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при длине волны 580 нм против дистиллированной воды или воздуха.

8.2. Повторить измерения оптической плотности пробы через 1 и 2 минуты (D_1 , D_2).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD) для холостой, калибровочной и анализируемой проб по формуле:

$$\Delta D = [(D_2 - D_1) + (D_1 - D_0)]/2$$

9.2. Активность липазы в сыворотке или плазме крови А (Е/л) определить по формуле:

$$A = \frac{\Delta D_{обр} - \Delta D_{хол}}{\Delta D_{кал} - \Delta D_{хол}} \times A_{кал}$$

где $\Delta D_{обр}$ – изменение оптической плотности анализируемой пробы в минуту (ед. опт. плотн./мин);

$\Delta D_{хол}$ – изменение оптической плотности холостой пробы в минуту (ед. опт. плотн./мин);

$\Delta D_{кал}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту (ед. опт. плотн./мин).

9.3. Если вычисленное значение активности липазы превышает верхний предел линейности (320 Е/л), развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ, а результат определения умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЛИПАЗА - UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 18 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение 90 дней.

10.4. Следует избегать замораживания компонентов набора.

10.7. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Всего прошнуровано,
пронумеровано и скреплено
печатью 4 лист.
Генеральный директор УК
А.Н. Шибанов

