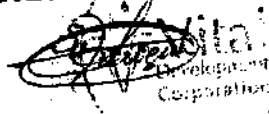


УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 2011 г. № _____

КОПИЯ ВЕРНА
Ген. директор
Е.Н.Схолль-Энгбертс



УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорейшн»



Е.Н.Схолль-Энгбертс

2011 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения
активности щелочной фосфатазы в сыворотке (плазме) крови
методом "по конечной точке" с п-нитрофенилфосфатом

(Щелочная фосфатаза-Витал)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор Щелочная фосфатаза-Витал предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке (плазме) крови методом "по конечной точке" с п-нитрофенилфосфатом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при расходе 0,5 мл рабочего реагента на один анализ.

ПРИНЦИП МЕТОДА

П-нитрофенилфосфат под воздействием щелочной фосфатазы расщепляется на п-нитрофенол, дающий в щелочной среде желтое окрашивание, и фосфат. Количество образовавшегося в единицу времени п-нитрофенола пропорционально активности щелочной фосфатазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят:

- реагент 1: глициновый буфер, pH 10,4, 50 ммоль/л, состоящий из глицина, натрия гидроокиси, кислоты соляной; магния хлорида, 95 мг/л - 1 флакон (80 мл);
- реагент 2: натрия гидроокись, концентрат, 200 ммоль/л - 1 флакон (100 мл);
- реагент 3: раствор п-нитрофенилфосфата, состоящий из п-нитрофенилфосфата динатриевой соли, 27,6 ммоль/л; кислоты соляной, 1,0 ммоль/л - 1 флакон (20 мл) или 2 флакона (по 10 мл);
- калибратор: калибровочный раствор п-нитрофенола с концентрацией 50 мкмоль/л, готов к использованию - 1 флакон (12 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Линейная область определения активности щелочной фосфатазы – в диапазоне от 10 до 150 Е/л, отклонение от «линейности» - не более 7 %.

Чувствительность определения – не более 6,0 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений – не более 7 %.

Качество набора может оцениваться по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

Нормальные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке (плазме) крови составляют 16,7-49,8 Е/л.

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

ОБРАЗЦЫ

Свежая негемолизированная сыворотка (плазма) крови.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил 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.).

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

Реагенты 1 и 2 содержат щелочь, реагент 1 и 3 - соляную кислоту. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания жидкости на кожу и слизистые. В случае попадания на кожу и слизистые следует промыть пораженное место большим количеством проточной воды. В случае попадания внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- Спектрофотометр или фотозлектроколориметр, длина волны 405 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05; 0,5; 1,0; 1,5; 3,0 и 5,0 мл;
- пробирки вместимостью 10 мл;
- колбы мерные стеклянные вместимостью 100 и 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки резиновые или пластиковые.

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Приготовление рабочего реагента

В мерной колбе вместимостью 100 мл смешать реагент 1 и реагент 3 в соотношении 4:1.

Полученный рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 10 дней или при температуре -20°C не более 3 мес.

Приготовление рабочего раствора реагента 2

Содержимое флакона с реагентом 2 количественно перенести в мерную колбу вместимостью 1000 мл, довести объем дистиллированной водой до метки и тщательно перемешать.

Рабочий раствор реагента 2 можно хранить во флаконе из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) в течение срока годности набора.

Построение калибровочного графика

В пять рядов пробирок вместимостью 10 мл по 5 штук в каждом ряду внести калибратор и рабочий раствор реагента 2 в количествах, указанных в таблице.

Таблица

№ ряда	Калибратор, мл	Рабочий раствор реагента 2, мл	Активность ЩФ, Е/л
1	0,5	5,05	16,7
2	1,0	4,55	33,4
3	1,5	4,05	50
4	3,0	2,55	100
5	4,5	1,05	150

Тщательно перемешать содержимое пробирок вручную путем встряхивания и измерить оптическую плотность проб при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм против рабочего раствора реагента 2.

Рассчитать средние арифметические значения (Е) оптических плотностей измеренных проб для каждого ряда.

Построить калибровочный график, откладывая на оси ординат значения Е для каждого ряда, а на оси абсцисс - соответствующие им значения активности щелочной фосфатазы.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Подготовить по одной пробирке вместимостью 10 мл для каждой анализируемой пробы сыворотки или плазмы крови (опытные пробы) и по одной пробирке вместимостью 10 мл для контрольной (холостой) пробы к каждой опытной пробе. Во все пробирки внести по 0,5 мл рабочего реагента; в пробирки с опытными пробами добавить по 0,05 мл анализируемой сыворотки (плазмы) крови. (Рабочий реагент должен быть предварительно нагрет до температуры $+37^{\circ}\text{C}$). Содержимое пробирок тщательно перемешать и инкубировать при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин (точно!). После окончания инкубации остановить реакцию, добавив во все пробирки по 5,0 мл рабочего раствора реагента 2 и охладить пробы до комнатной температуры в водяной бане со льдом; в пробирки с контрольной (холостой) пробой добавить также по 0,05 мл соответствующей анализируемой сыворотки (плазмы) крови.

Пробы тщательно перемешать и измерить оптическую плотность каждой опытной пробы против соответствующей контрольной (холостой) пробы при длине волны 405 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм. Окраска растворов стабильна в течение 1 ч.

Активность щелочной фосфатазы в анализируемых пробах сыворотки (плазмы) крови определить по калибровочному графику.

Примечание: 1 Е/л = 16,67 нмоль/(с*л).

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности. Допускается хранение набора при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 сут.

Срок годности набора – 12 мес.

Реагенты 1 и 3 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$, реагент 2 – при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Калибратор после вскрытия флакона можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 6 мес.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более 10 дней или при температуре -20°C не более 3 мес.

Рабочий раствор реагента 2 можно хранить при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) во флаконе из полиэтилена с плотно закрывающейся крышкой в течение всего срока годности набора.

Если значение активности щелочной фосфатазы превышает 150 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 2 раза, повторить определение и полученный результат умножить на 2.

Для отбора и добавления анализируемых проб и компонентов набора рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменяемыми наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн» по адресу:

194 156, Санкт-Петербург, пр. Энгельса, д. 27.

Тел/факс: (812) 326-61-98.

и на кафедру КЛД ГОУ ДПО «РМАПО Росздрава» по адресу:

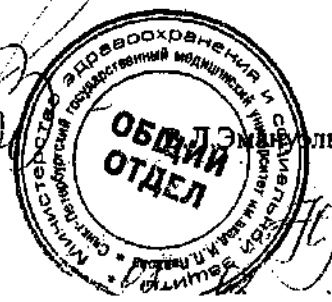
116 000, Москва, 2-й Боткинский пр, д. 5.

Тел.: (495) 945-82-22.

Генеральный директор
ОАО «Витал Девелопмент Корпорэйшн»

Е.Н. Схолль-Энгберте

Зав. кафедрой клинической лабораторной
диагностики с курсом молекулярной медицины,
директор НЦ «Институт лабораторной медицины»
ГОУ ВПО СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова Росздрава,
Главный специалист-эксперт
по клин. лаб. диагностике Росздравнадзора
по С-ЗФО, д. м. н., профессор



Прошито, пронумеровано,
и скреплено печатью

Всего 3 листа (оригиналы)
Ген. директор
Схолль-Энгберге Е.Н.

