

**УТВЕРЖДЕНА**

Приказом Росздравнадзора

от \_\_\_\_\_ 20\_\_ г. № \_\_\_\_\_

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Генеральный директор

ЗАО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

2011 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

по применению Набора реагентов для определения активности  
щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови кинетическим методом  
**(ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-НОВО жидкая форма)**

### **1. НАЗНАЧЕНИЕ**

1.1. Набор реагентов **ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-НОВО жидкая форма** предназначен для определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях.

1.2. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (вариант 1) или 200 (вариант 2) определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на одно определение.

### **2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА**

#### **2.1. Принцип метода**

Метод определения активности щелочной фосфатазы основан на гидролизе п-нитрофенилфосфата в диэтаноламиновом буфере с образованием п-нитрофенола, окрашенного в желтый цвет. Скорость образования п-нитрофенола пропорциональна активности ЩФ в анализируемом образце и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

#### **2.2. Состав набора**

Набор может поставляться в двух вариантах комплектации (варианты 1 и 2).

В состав набора входят:

– реагент 1: буферный раствор, содержащий диэтаноламин, 1,43 моль/л; магний хлористый, 0,62 ммоль/л; натрия азид, 0,1%; pH  $10,3 \pm 0,1$  – 2 флакона (по 40 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 80 мл) (вариант 2);

*Инструкция составлена сотрудниками ЗАО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Л.В. Гаевой и нач. участка наработки ферментов Е.А. Курбатовой.*

– реагент 2: раствор, содержащий п-нитрофенилфосфат динатриевую соль, 50 ммоль/л; натрия азид, 0,1% – 2 флакона (по 10 мл) (вариант 1) или 2 флакона (по 20 мл) (вариант 2).

Конечные концентрации компонентов в рабочем растворе реагентов:

- п-нитрофенилфосфат – 10 ммоль/л;
- диэтаноламин – 1,14 моль/л;
- магний хлористый – 0,5 ммоль/л;
- натрия азид – 0,1%.

### **3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

3.1. Линейность. Линейная область определения активности щелочной фосфатазы – в диапазоне от 60 до 1200 Е/л. Отклонение от «линейности» – не более 5%.

3.2. Чувствительность определения – не более 50 Е/л.

3.3. Коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.

3.4. Нормальные величины активности ЩФ составили:

взрослые: 70 – 270 Е/л;

дети: 250 – 680 Е/л (от 0 до 2 мес и от 6 мес до 3 лет);

210 – 830 Е/л (от 2 до 6 мес);

240 – 900 Е/л (от 3 до 15 лет).

3.5. Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности ЩФ для обследуемого контингента людей.

### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Реагент 1 и реагент 2 содержат натрия азид, реагент 2 – п-нитрофенилфосфат. При работе с реагентами 1 и 2 и рабочим раствором реагентов следует избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания указанных растворов на кожу и слизистые необходимо промыть поражённые участки большим количеством проточной воды.

4.3. 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.).

4.4. 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 гепатитов или любой другой возбудитель вирусных инфекций.

## **5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:**

- Полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 10 мм;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20 и 1000 мкл;
- пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;
- термостат, поддерживающий температуру  $+37 \pm 0,5$  °C;
- перчатки резиновые или пластиковые;
- секундомер;
- вода дистиллированная;
- физиологический раствор (0,9 % NaCl).

## **6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Для проведения анализа следует использовать свежую сыворотку или гепаринизированную плазму крови без следов гемолиза.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре  $+2-8$  °C не более 7 сут, при комнатной температуре ( $+18-25$  °C) не более 7 сут; при температуре минус 20 °C и ниже не более 2 мес.

## **7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

### **7.1. Приготовление рабочего раствора реагентов**

Содержимое одного флакона с реагентом 2 объединить с содержимым одного флакона с реагентом 1, перемешать вручную.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре  $+2-8$  °C не более 3 мес или при комнатной температуре не более 6 ч.

### **7.2. Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры $+37$ °C.**

7.3. Внести в термостатируемую кювету биохимического анализатора, поддерживающую температуру  $+37 \pm 0,2$  °C, 1000 мкл подогретого рабочего раствора реагентов, добавить 20 мкл анализируемой сыворотки или плазмы крови, тщательно перемешать и включить секундомер.

Примечание. В зависимости от объема используемой кюветы количество рабочего раствора реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему раствору реагентов составляет 1:5).

## 8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Через 1 мин измерить оптическую плотность при длине волны 405 нм против воздуха или воды. Повторить измерения 3 раза с интервалом времени 1 мин.

## 9. РАСЧЁТЫ

Рассчитать изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 мин ( $\Delta E$  /мин) по формуле:

$$\Delta E / \text{мин} = \Delta E_n / t,$$

где:  $\Delta E_n$  – изменение оптической плотности, ед. опт. плотн.;

$t$  – интервал времени между измерениями, мин.

Активность ЩФ (А), Е/л, в анализируемом образце определить по формуле:

$$A = (\overline{\Delta E} / \text{мин}) \times F,$$

где:  $\overline{\Delta E} / \text{мин}$  – среднее арифметическое значение изменения оптической плотности анализируемой пробы за 1 мин, ед. опт. плотн./мин;

$F$  – фактор пересчета.

Фактор пересчета ( $F$ ) определяется по формуле:

$$F = (V \times 1000) / (\varepsilon \times v \times \ell) = (1,02 \times 1000) / (18,5 \times 0,02 \times 1) = 2757,$$

где:  $V$  – конечный объем реагентов в кювете, мл;

$v$  – объем анализируемой пробы, мл;

$\varepsilon$  – коэффициент молярной экстинкции п-нитрофенола в условиях определения ( $18,5 \text{ л} \times \text{моль}^{-1} \times \text{см}^{-1}$ );

$\ell$  – длина оптического пути, см;

1000 – коэффициент пересчета для выражения активности ЩФ в Е/л.

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

## 10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов **ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-НОВО жидкая форма** должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности (1,5 года). Допускается хранение набора при температуре до +25 °С не более 10 сут.

10.2. Рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде при температуре +2-8 °С не более 3 мес или при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 6 ч.

10.3. Для проведения анализа следует использовать свежую сыворотку или гепарини-

зированную плазму крови без следов гемолиза.

10.4. Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре +2-8 °С не более 7 сут, при комнатной температуре (+18-25 °С) не более 7 сут, при температуре минус 20 °С и ниже не более 2 мес.

10.5. Качество набора может проверяться по отечественным и зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом (метод DGKC).

10.6. В том случае, когда величина активности ЩФ в анализируемых образцах превышает 1200 Е/л, образец следует развести физиологическим раствором в 5 раз (20 мкл исследуемого образца + 80 мкл физиологического раствора), повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

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

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

По вопросам, касающимся качества набора **ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-НОВОЖИДКАЯ ФОРМА**, следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121,  
тел. (383) 227-67-64, 227-75-50, тел./факс (383) 336-73-46.

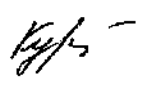
Начальник участка наработки ферментов

ЗАО «Вектор-Бест»

Начальник отдела биохимии

ЗАО «Вектор-Бест», к.б.н.

Проректор ГОУ ВПО НГМУ Росздрава  
по лечебной работе, д.м.н., профессор  
М.П.

 Е.А. Курбатова

 Л.В. Гаевая

 Л. Потеряева

Зарегистрировано, пронумеровано  
Скреплено печатью  
5 Листов

*Е.А.*