

«СОГЛАСОВАНО»
Главный врач ФГБУЗ ЦКБ РАН,
д.м.н., профессор
Никитин А.Э.
«28» 02 2019 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»
Смирнов А.В.
«02» 03 2019 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

Набор реагентов для определения активности щелочной фосфатазы кинетическим оптимизированным методом в сыворотке и плазме крови (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения активности щелочной фосфатазы кинетическим оптимизированным методом в сыворотке и плазме крови (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС) предназначен для определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) кинетическим оптимизированным методом в сыворотке и плазме крови человека в клинико-диагностических лабораториях.

Набор реагентов (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Щелочная фосфатаза (ЩФ) – гидролитический фермент, оптимально работающий при щелочном pH (около 10). ЩФ содержится практически во всех тканях человеческого организма: в костной ткани, печени, клетках почечных канальцев, предстательной железе, молочной железе, слизистой оболочке кишечника. Она представлена рядом изоферментов (всего 11 изоформ): печеночным, костным, желчным, кишечным, плацентарным, неидентифицированными изоферментами (часто опухолевого происхождения). Физиологическое увеличение активности ЩФ происходит при росте костей в детстве и при беременности, патологические увеличения в основном связывают с гепатобилиарными болезнями и заболеваниями костей. При гепатобилиарных болезнях увеличение ЩФ указывает на закупоривание желчных протоков как при холестазе, вызванном желчными камнями, опухолями или воспалением. Повышение активности также наблюдается при инфекционных гепатитах. При болезнях костей увеличение ЩФ происходит из-за повышенной остеобластической активности как при болезни Педжета, остеомалации (рахите), костных метастазах и гиперпаратиреозе.

МЕТОД

Кинетический фотометрический тест, в соответствии с рекомендациями Международной Федерации Клинической Химии и Лабораторной Медицины (IFCC).

ПРИНЦИП МЕТОДА

Щелочная фосфатаза катализирует реакцию гидролиза п-нитрофенилфосфата с образованием эквимольного количества п-нитрофенола и фосфата. Скорость образования п-нитрофенола прямо пропорциональна активности щелочной фосфатазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.



СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1: буферный раствор, pH 10,4, содержащий 2-амино-2-метил-пропанол, $\geq 1,0$ моль/л; ацетат магния, $\geq 1,5$ ммоль/л; сульфат цинка, $\geq 0,2$ ммоль/л; HEDTA, $\geq 2,0$ ммоль/л.

Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 9,0, содержащий п-нитрофенилфосфат, ≥ 50 ммоль/л.

Варианты комплектации набора:

- 1) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл).
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл).
- 3) Реагент 1: 2 флакона (по 68 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 17 мл).
- 4) Реагент 1: 6 флаконов (по 68 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 17 мл).
- 5) Реагент 1: 2 флакона (по 64 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 6) Реагент 1: 6 флаконов (по 64 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 7) Реагент 1: 2 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 8) Реагент 1: 6 флаконов (по 65 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 20 мл).
- 9) Реагент 1: 4 флакона (по 65 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 20 мл).
- 10) Реагент 1: 4 флакона (по 38 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 22 мл).
- 11) Реагент 1: 6 флаконов (по 24 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 13 мл).
- 12) Реагент 1: 6 флаконов (по 16 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 4,0 мл).
- 13) Реагент 1: 5 флаконов (по 62 мл);
Реагент 2: 5 флаконов (по 18 мл).
- 14) Реагент 1: 6 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 32 мл).
- 15) Реагент 1: 4 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 16) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 17) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 18) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 19) Реагент 1: 2 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 11 мл).
- 20) Реагент 1: 4 флакона (по 15 мл);
Реагент 2: 1 флакон (15 мл).

- 21) Реагент 1: 6 флаконов (по 32 мл);
Реагент 2: 3 флакона (по 16 мл).
- 22) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 5,0 мл).
- 23) Реагент 1: 5 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 5 флаконов (по 10 мл).
- 24) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 2,0 до 2100 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 2,0 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 3%.

В ручном режиме измерений тест применяется для определения активности ЩФ, соответствующей изменению оптической плотности $\Delta A/\text{мин}$ не более 0,25. Если значение превосходит эту величину, образец следует развести 1+9 физиологическим раствором (0,9% NaCl) и полученный результат умножить на 10.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U (метод IFCC), производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов рекомендуем проводить измерения контрольной сыворотки «Норма» (TruLab N) и контрольной сыворотки «Патология» (TruLab P) (метод IFCC), производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия).

Возможно использование других контрольных сывороток, аттестованных данным методом и не уступающих по своим свойствам рекомендуемым.

Калибровку рекомендуем проводить в следующих случаях: при непрохождении контроля качества (в случае выхода значений контроля качества за пределы установленных диапазонов для используемого лота контрольного материала), при использовании набора новой серии, при уточнении фактора пересчета.

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Возраст/Пол	Жен.	Муж.
Дети:	Активность ЩФ, Е/л	
1 – 30 дней	48 – 406	75 – 316
1 мес. – 1 год	124 – 341	82 – 383
1 – 3 года	108 – 317	104 – 345
4 – 6 лет	96 – 297	93 – 309
7 – 9 лет	69 – 325	86 – 315
10 – 12 лет	51 – 332	42 – 362
13 – 15 лет	50 – 162	74 – 390
16 – 18 лет	47 – 119	52 – 171
Взрослые:	35 – 105	40 – 130

Рекомендуем в каждой лаборатории уточнять диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

ОБРАЗЦЫ

Негемолизированная сыворотка крови или гепаринизированная плазма.

Стабильность:

7 дней	при 15–25°C
7 дней	при 2–8°C
2 месяца	при –20°C

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

Замораживать образцы можно не более одного раза!

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ Минздрава РФ от 06.06.2012 № 4н).

При работе с набором реагентов необходимо соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промойте пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании выпейте 0,5 л теплой воды и вызовите рвоту.

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» (Москва, 1981 г.).

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

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- биохимический анализатор, поддерживающий длину волны Hg 405 нм (400-420 нм), в том числе:
 FURUNO CA-270/CA-400/CA-800,
 DIRUI CS-T240/CS-600B,
 FURUNO CA-180,
 САПФИР 400-24,
 САПФИР 400-36,
 Konelab 20/20i/30/60,
 Mindray BS-300/380/400,
 Mindray BS-120/200/200E,
 Respons,
 BioMajesty,
 BioSystems A25/A15;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости до 5000 мкл (ошибка не более 3%);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые;
- мультикалибратор TruCal U, производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия);
- вода очищенная;
- физиологический раствор (0,9% NaCl).

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Для приготовления рабочего реагента: смешать 4 объема Реагента 1 и один объем Реагента 2. Для стабилизации компонентов раствора, рабочий реагент перед использованием следует выдержать 20–30 мин при комнатной температуре (15–25°C). Рабочий реагент можно хранить в защищенном от света месте при температуре 2–8°C в течение 4 недель или при комнатной температуре (15–25°C) в течение 5 дней, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Следует тщательно закрывать флаконы с Реагентами 1 и 2 непосредственно после каждого использования, в том числе при хранении на борту автоматических биохимических анализаторов (в нерабочее время).

Лиофилизированный мультикалибратор TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия) готовят согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно

Длина волны, нм Hg 405 (400 – 420)
 Длина опт. пути, см 1
 Температура, °C 37
 Измерение против холостой пробы

Компоненты реакционной смеси отбирайте в количествах, указанных в таблицах.

Биреагентная схема – запуск реакции субстратом.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	20	–	–
Мультикалибратор	–	20	–
Образец	–	–	20
Реагент 1	1000	1000	1000
Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить:			
Реагент 2	250	250	250
Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность и включить секундомер. Измерить оптическую плотность снова через 1, 2 и 3 мин.			

Монореагентная схема – запуск реакции образцом.

Отмерить, мкл*	Контрольная (холостая) проба	Калибровочная проба	Опытная проба
Дистиллированная вода	20	–	–
Мультикалибратор	–	20	–
Образец	–	–	20
Рабочий реагент	1000	1000	1000
Тщательно перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность и включить секундомер. Измерить оптическую плотность снова через 1, 2 и 3 мин.			

Вычислить среднее значение $\Delta A/\text{мин}$ образца/мультикалибратора

***Примечание.** Количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы и типа используемого биохимического анализатора (соотношение образец: Реагент 1 : Реагент 2 составляет 1:50:12,5; а соотношение образец : Рабочий реагент составляет 1:50).

РАСЧЕТЫ

По фактору:

Из значений оптической плотности вычислить $\Delta A/\text{мин}$ и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

$$\Delta A/\text{мин} \times \text{фактор} = \text{Активность ЩФ [Е/л]}.$$

Запуск реакции субстратом	405 нм	3433
Запуск реакции образцом	405 нм	2757

По мультикалибратору:

$$\text{Активность ЩФ [Е/л]} = \frac{\Delta A/\text{мин образца}}{\Delta A/\text{мин мультикалибратора}} \times \text{Активность ЩФ в мультикалибраторе [Е/л]}$$

Фактор конверсии:

$$\text{ЩФ [Е/л]} \times 0,0167 = \text{ЩФ [мккат/л]}.$$

СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл, конъюгированный билирубин до 1026 мкмоль/л, неконъюгированный билирубин до 427,5 мкмоль/л, гемоглобин до 1,0 мг/дл, липемия до 22,52 ммоль/л триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

Гемолиз пробы крови и образцы пациентов с гаммопатией приводят к искажению результатов анализа.

ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование должно производиться с использованием крытого грузового авто, авиа, ж/д транспорта, в соответствии с требованиями и правилами, принятыми на данном виде транспорта, при температуре 2-8°C. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25°C не более 5 суток.

Срок годности набора – 15 месяцев.

При соблюдении условий хранения все компоненты набора стабильны в течение всего срока годности.

После вскрытия флаконов реагенты стабильны до конца месяца, указанного в сроке годности, при хранении при температуре 2-8°C, в защищенном от света месте, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Стабильность реагентов набора и стабильность калибровки на борту автоматического биохимического анализатора не менее 8 дней.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Набор реагентов ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС предназначен для применения в клинико-диагностических лабораториях. При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Утилизацию или уничтожение Набора реагентов, неиспользованных реактивов, дезинфекцию следует проводить в соответствии с СанПин 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» для Класа «Б» медицинских отходов и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

АО «ДИАКОН-ДС» гарантирует качество, эффективность и безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании набора реагентов по назначению в условиях, предусмотренных данной инструкцией по применению.

Гарантийные обязательства АО «ДИАКОН-ДС» распространяются с даты изготовления и на период срока годности медицинского изделия, при условии надлежащего транспортирования, хранения и эксплуатации.

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

По вопросам, касающимся качества набора **ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА IFCC ДиаС**, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, г. Пушкино, Московской обл., Ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС»



к.б.н. О.Ю. Гудкова



Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью ✓

Генеральный директор
АО «ДИАКОН-ДС»

В.В. Николаев