

«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
Акционерного общества
«ДИАКОН-ДС»



Корзун Т.Ю.

« 28 » 08 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

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

по ТУ 21.20.23.110-022-48813770-2016

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

«Набор реагентов для определения активности щелочной фосфатазы кинетическим методом в сыворотке и плазме крови (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС)», по ТУ 21.20.23.110-022-48813770-2016 предназначен для определения активности щелочной фосфатазы кинетическим методом в сыворотке и плазме крови в клинико-диагностических и биохимических лабораториях и научно-исследовательской практике.

Набор реагентов (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС) должен использоваться квалифицированным персоналом в области клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Количество определений зависит от объема фасовки и используемого биохимического анализатора.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Щелочная фосфатаза (ЩФ) – фермент, катализирующий гидролиз неорганических и органических фосфатов. ЩФ оптимально работает при щелочном рН (около 10). Фермент находится в остеобластах, клетках печени и желчевыводящих путей, кишечнике, почках (проксимальные канальца), лейкоцитах, предстательной железе, молочной железе, плаценте, в интенсивно делящихся клетках. Для каждого органа выделяют свой изофермент щелочной фосфатазы: ЩФ билиарных путей, гепатоцитов, кишечника, костей, плаценты и опухолей.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ

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, остеомалиции (рахите), костных метастазах и гиперпаратиреозе.

Снижение активности ЩФ свидетельствует о гипервитаминозе D, гипотиреозном и гипопаратиреозном состоянии, гиповитаминозе С, анемии, накоплении радиоактивных веществ в костях, лечении кортикостероидными препаратами.

Набор реагентов (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС) относится к вспомогательным средствам диагностики, клинический диагноз не может быть поставлен по результатам одного анализа, необходима консультация квалифицированного специалиста.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС) может быть использован для исследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку для оценки остеобластной функции и минерального обмена костной ткани, для диагностики обструктивных заболеваний желчевыводящих путей и ограниченных поражений печени, для диагностики метастазов опухолей в печень и получения дополнительной информации о наличии опухолевой трансформации тканей, для исследования функционального состояния плаценты в III триместре беременности.

Показания для сдачи анализа на ЩФ: симптомы болезни печени, желтуха; боли в костях, мышцах, суставах; диагностика заболеваний, при которых наблюдается деминерализация или разрушение костей; беременность.

Набор реагентов (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС) предназначен только для однократного применения по назначению.

Противопоказаний не имеет.

МЕТОД

Кинетический фотометрический тест в соответствии с рекомендациями DGKC (Германское Общество Клинической Химии).

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

Варианты исполнения:

1. Вариант 1:
 - 1.1. Реагент 1: буферный раствор, pH 9,95, содержащий диэтаноламин $\geq 1,0$ моль/л
 - 1.2. Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 9,0, содержащий п-нитрофенилфосфат азид натрия > 20 ммоль/л
0,095 %

в следующих комплектациях:

- 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: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 5,0 мл).
- 15) Реагент 1: 5 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 5 флаконов (по 10 мл).
- 16) Реагент 1: 4 флакона (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 20 мл).
- 17) Реагент 1: 6 флаконов (по 40 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 32 мл).
- 18) Реагент 1: 4 флакона (по 35 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 19) Реагент 1: 6 флаконов (по 33 мл);
Реагент 2: 6 флаконов (по 12 мл).
- 20) Реагент 1: 4 флакона (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (20 мл).
- 21) Реагент 1: 4 флакона (по 90 мл);
Реагент 2: 1 флакон (90 мл).
- 22) Реагент 1: 4 флакона (по 60 мл);
Реагент 2: 1 флакон (60 мл).
- 23) Реагент 1: 4 флакона (по 44 мл);
Реагент 2: 4 флакона (по 11 мл).
- 24) Реагент 1: 4 флакона (по 15 мл);
Реагент 2: 1 флакон (15 мл).
- 25) Реагент 1: 1 канистра (10000 мл);
Реагент 2: 1 канистра (2500 мл).
- 26) Реагент 1: 4 флакона (по 17 мл);
Реагент 2: 1 флакон (18 мл).
- 27) Реагент 1: 4 флакона (по 31 мл);
Реагент 2: 2 флакона (по 16 мл).

2. Вариант 2:

- 2.1. Реагент 1: буферный раствор, pH 9,95, содержащий
диэтаноламин ≥1,0 моль/л
- 2.2. Реагент 2: буферно-субстратный раствор, pH 9,0, содержащий
п-нитрофенилфосфат >20 ммоль/л
азид натрия 0,095 %
- 2.3. Идентификационная метка

в следующих комплектациях:

- 1) Реагент 1: 5 флаконов (по 20 мл);
Реагент 2: 1 флакон (25 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.
- 2) Реагент 1: 5 флаконов (по 80 мл);
Реагент 2: 1 флакон (100 мл);
Идентификационная метка: 1 штука.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Линейность в диапазоне от 40 до 1200 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 30 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности щелочной фосфатазы в образце более 1200 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta A/\text{мин}$ не должно превышать 0,3) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором (0,9% NaCl) в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

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

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

Для калибровки автоматических фотометрических систем и уточнения фактора пересчета для полуавтоматических биохимических анализаторов рекомендуем использовать мультикалибратор TruCal U (метод DGKC) производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия). Концентрация ЩФ в TruCal U прослеживается до коэффициента молярной экстинкции в соответствии с оригинальной процедурой DGKC.

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 нового набора.

РЕФЕРЕНСНЫЕ/НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

В сыворотке или плазме крови (А.А. Чиркин, 2004):

Возраст	Активность, Е/л
Новорожденные	<600
до 12 месяцев	<1100
1 – 12 лет	<720
13 – 17 лет (жен)	<448
13 – 17 лет (муж)	<936
Взрослые (жен)	<240
Взрослые (муж)	<270

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

ОБРАЗЦЫ

1. Сыворотка (без гемолиза). Взятие крови для анализа следует проводить с использованием стандартных процедур для венозной крови. Образцы сыворотки

должны быть отделены от форменных элементов крови центрифугированием не позднее, чем через 1 ч после забора.

2. Плазма. Рекомендуем использовать вакуумные пробирки с Гепарином в качестве антикоагулянта.

Щелочная фосфатаза сыворотки крови стабильна, поэтому сыворотка может храниться при комнатной температуре (15-25°C) не более 4 суток. Сыворотку допускается хранить и в холодильнике при 2-8°C не более 48 ч, однако при этом активность фермента может повышаться на 10%. Хранение сыворотки 1 месяц при -20°C допускается, но не рекомендуется, так как в размороженной сыворотке активность фермента падает на $\geq 10\%$.

Замораживать образцы можно не более одного раза!

Загрязненные образцы хранению не подлежат!

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

Реагент 1 содержит диэтаноламин. Существует опасность поражения глаз. В случае попадания в глаза – немедленно промойте большим количеством воды и обратитесь за медицинской помощью. Используйте защитную одежду, перчатки и очки!

В реагенте 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ним соблюдайте осторожность и не допускайте 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. При необходимости обратитесь к врачу.

В ходе реакции образуется п-нитрофенол, который ядовит при вдыхании, проглатывании или поглощении через кожу. В случае контакта реакционной смеси с кожей или слизистыми оболочками – обильно промойте водой.

Все компоненты набора, в используемых концентрациях для *in vitro* диагностики, являются нетоксичными.

На маркировку реагента 1 и реагента 2, коробки с набором наносится графический символ  - *Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению* (по ГОСТ Р ИСО 15223-1).

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.

Соблюдайте требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

Физические риски (возможность самопроизвольного взрыва или возгорания) отсутствуют.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Биохимический анализатор, поддерживающий длину волны 405 нм;
- спектрофотометр, поддерживающий длину волны 405, с длиной оптического пути 1 см;
- термостат водяной;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 10 до 5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (допустимая погрешность не более 3%);
- мультикалибратор TruCal U «DiaSys Diagnostic Systems GmbH»;
- посуда стеклянная мерная лабораторная;
- вода дистиллированная;

- физиологический раствор (0,9% NaCl);
- перчатки медицинские диагностические одноразовые.
-

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 при температуре 2-8°C в течение 4 недель или при комнатной температуре (15-25°C) в течение 5 суток при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения, в защищенном от света месте.

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) готовить согласно прилагаемой к каждому лоту инструкции.

При наличии системы идентификации набора реагентов активировать анализатор с помощью Идентификационной метки способом, предусмотренным производителем анализатора.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Адаптации к автоматизированным системам запрашивайте дополнительно.

Перед проведением анализа рабочий реагент следует прогреть при температуре $37 \pm 1,0^\circ\text{C}$ в течение 5 мин.

Компоненты реакционной смеси отбирать 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 (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

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
Пробу и рабочий реагент перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

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 образца к **рабочему реагенту** составляет 1:50).

РАСЧЕТЫ

По мультикалибратору:

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

где: $\Delta A/\text{мин}_{\text{оп}}$ – изменение оптической плотности опытной пробы в минуту, ед.опт.пл.;
 $\Delta A/\text{мин}_{\text{кал}}$ – изменение оптической плотности калибровочной пробы в минуту, ед.опт.пл.

По фактору (указан в паспорте к набору):

Определение активности ЩФ можно проводить по фактору, который указывается в паспорте к набору (фактор зависит от типа используемого анализатора). Рекомендуем уточнять значение фактора по мультикалибратору TruCal U производства «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Германия), аттестованному по активности ЩФ в соответствии с методом DGKC.

ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ (СПЕЦИФИЧНОСТЬ/ПОМЕХОУСТОЙЧИВОСТЬ)

Аскорбиновая кислота до 300 мкг/мл, билирубин до 684 мкмоль/л, гемоглобин до 1,5 г/л и липемия до 22,52 ммоль/л триглицеридов не влияют на точность анализа. Дополнительных веществ (АЛФ), устраняющих липемичность сыворотки, не требуется.

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.

Изделия, транспортированные и хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Прекратить применение серии изделия по истечению срока ее годности.

Срок годности Идентификационной метки – ограничен моментом активации анализатора.

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

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

Рабочий реагент можно хранить в темном месте при температуре 2-8°C в течение 4 недель и при комнатной температуре (15-25°C) в течение 5 суток, при условии достаточной герметичности флаконов и отсутствии загрязнения.

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

ТРЕБОВАНИЯ ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Набор (ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС) не содержит взрывоопасных веществ, представляющих угрозу окружающей среде и здоровью медицинского персонала, при соблюдении всех мер безопасности и утилизации набора, рекомендованных производителем.

УТИЛИЗАЦИЯ И УНИЧТОЖЕНИЕ

Изделие, пришедшее в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежит утилизации.

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.

По вопросам, касающимся качества набора **ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДДС**, следует обращаться в АО «ДИАКОН-ДС» по адресу: 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а; тел. (495) 980-63-38, т/факс (495) 980-66-79.

РУ № ФСР 2009/04713

28 АВГ 2020

Инструкция утверждена _____.

Начальник Отдела Исследований и Разработок
АО «ДИАКОН-ДС», к.б.н.



О. Ю. Гудкова

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П. К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 8 ЛИСТОВ

