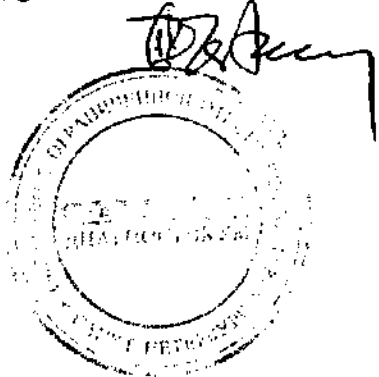


КОПИЯ ВЕРНА



УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
надзора в сфере здравоохранения и
социального развития



Р.У.Хабриев

декабрь 2004 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
щелочной фосфатазы в сыворотке (плазме) крови
(ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы кинетическим методом в сыворотке или плазме крови человека в клиничко-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 125 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Инструкция составлена директором по науке ООО «Ольвекс Диагностикум», к.б.н. З.А.Тупиковой и заведующим кафедрой клинической лабораторной диагностики СПб МАЛО, д.м.н., профессором А.В.Козловым.

Принцип метода

Под действием щелочной фосфатазы п-нитрофенилфосфат превращается в п-нитрофенол:



Количество образующегося в единицу времени п-нитрофенола прямо пропорционально активности щелочной фосфатазы и определяется фотометрически по изменению оптической плотности образца при длине волны 405 нм в единицу времени (кинетический метод).

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (буферный раствор), pH 10,35, содержащий 2-амино-2-метил-1-пропанол, 350 ммоль/л; магния хлорид, 2,0 ммоль/л; азид натрия, 50 мг/л; соляную кислоту 1,0 моль/л; готов к применению - 2 флакона (по 100 мл) или 1 флакон (200 мл);
- реагент 2 (субстрат), содержащий п-нитрофенилфосфат, 16 ммоль/л; гидроокись натрия 1,0 моль/л; готов к применению - 1 флакон (50 мл).

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения активности щелочной фосфатазы в диапазоне от 40 до 680 Е/л, отклонение от линейности - не более 5%.

Чувствительность определения - не более 25 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определений - не более 5%.

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

Нормальные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке или плазме крови: у новорожденных - 120-275 Е/л, у детей 2-6 месяцев - 95-335 Е/л, у детей от 6 месяцев до 3-х лет - 120-275 Е/л, у мужчин - до 117 Е/л, у женщин - до 104 Е/л.

Анализируемые образцы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

В состав компонентов набора входят азид натрия, соляная кислота и гидроокись натрия. Следует избегать их попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При попадании внутрь следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с набором необходимо соблюдать "Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического 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 сыворотки или плазмы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

Оборудование, материалы и реагенты:

- Спектрофотометр, длина волны 405 нм, оснащенный термостатируемой кюветой (+37°C) с длиной оптического пути 1,0 см; полуавтоматический или автоматический биохимический анализатор;

- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,05 мл и 2,0 мл;
- цилиндр мерный вместимостью 50 мл;
- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

Приготовление рабочего реагента:

Перед проведением анализа смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1.

Полученный рабочий реагент можно хранить при температуре +2-8°C в темном месте в плотно закрытом флаконе - не более 30 суток.

Тщательно закрывать флаконы с реагентами непосредственно после каждого использования реагентов.

Проведение анализа

Рабочий реагент перед проведением анализа следует нагреть до температуры +37°C и в процессе проведения анализа постоянно поддерживать его температуру +37°C.

В термостатируемую кювету фотометра (температура +37°C) внести 2,0 мл рабочего реагента, добавить 0,05 мл сыворотки или плазмы крови, тщательно перемешать, включить секундомер. Через 1 минуту измерить оптическую плотность пробы против воздуха при длине волны 405 нм. Измерение оптической плотности повторить три раза с интервалом в 1 минуту (точно!).

Расчеты

Среднее арифметическое значение изменения оптической плотности опытной пробы за 1 минуту определяют по данным трех измерений ($\Delta \bar{E}/\text{мин}$).

Расчет активности щелочной фосфатазы провести по формуле:

$$A = \Delta \bar{E}/\text{мин} \times F,$$

где: A - активность щелочной фосфатазы, Е/л;

$\Delta \bar{E}/\text{мин}$ - среднее арифметическое значение изменений оптической плотности пробы за 1 минуту;

F - фактор пересчета (указывается в паспорте набора).

Условия хранения и эксплуатации набора

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

Срок годности набора - 6 месяцев.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в темном месте в плотно закрытом флаконе не более 30 дней.

Вскрытые флаконы с реагентом 1 и реагентом 2 можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в темном месте в плотно закрытой посуде не более 3 месяцев.

Для проведения анализа рекомендуется использовать полуавтоматические одноканальные пипетки, со сменными наконечниками, аттестованными на точность по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования.

В том случае, когда активность фермента превышает 680 Е/л, анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 10.

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

По вопросам, касающимся качества набора ЦЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-ОЛЬВЕКС, следует обращаться в ООО «Ольвекс Диагностикум» по адресу:

195197, г. Санкт-Петербург, пр. Обуховской обороны, 70.

Тел: (812) 567-84-46, (812) 567-83-02;

Факс: (812) 567-84-29

и в Институт государственного контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Минздрава РФ по адресу:

117246, г. Москва, Научный проезд, д. 14 А.

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор по науке

ООО «Ольвекс Диагностикум»



З.А.Тупикова

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики СПбМАПО,
д.м.н., профессор



А.В.Козлов