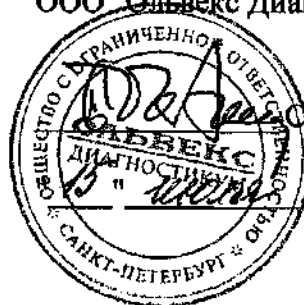


УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Ольвекс Диагностикум»



С.Н. Чавкин

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности
щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови
оптимизированным кинетическим методом с диэтаноламиновым буфером
(ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-4-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-4-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы оптимизированным кинетическим методом с диэтаноламиновым буфером в сыворотке и плазме крови человека в клиничко-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 125 или 250 определений при расходе 2,0 мл рабочего реагента на один анализ.

Принцип метода

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



Скорость образования р-нитрофенола прямо пропорциональна 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 (диэтанолоаминовый буфер), pH 9,8, содержащий диэтаноламин гидрохлорид, 1,0 моль/л; магния хлорид 6-водный, 0,5 ммоль/л; азид натрия, 50 мг/л; готов к применению – 1 или 2 флакона (по 200 мл);
- реагент 2 (субстрат), содержащий p-нитрофенилфосфат, 16 ммоль/л; гидроксид натрия 2,5 мл/л; готов к применению – 1 или 2 флакона (по 50 мл).

Аналитические характеристики

Набор обеспечивает линейную область определения активности щелочной фосфатазы в диапазоне от 70 до 1070 Е/л, отклонение от линейности – не более 5%.

Чувствительность определения – не более 40 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 составляют у мужчин от 90 до 320 Е/л, у женщин от 70 до 260 Е/л.

Анализируемые образцы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза.

Пробы могут храниться не более 4 часов при комнатной температуре (+18-25°C) или 7 дней при температуре +2-8°C.

Меры предосторожности

Потенциальный риск применения набора – класс 2а.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

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.).

При работе с набором следует использовать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять или передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любые другие возбудители инфекций.

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 $+2-8^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте в плотно закрытом полиэтиленовом флаконе – не более 30 дней.

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

Тщательно закрывать флаконы с реагентами непосредственно после каждого использования реагентов.

Проведение анализа

Рабочий реагент перед проведением анализа следует нагреть до температуры $+37^{\circ}\text{C}$ и в процессе проведения анализа постоянно поддерживать его температуру $+37^{\circ}\text{C}$.

В термостатируемую кювету фотометра (температура $+37^{\circ}\text{C}$) 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!). Общее время реакции не должно превышать 4 минуты.

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 течение всего срока годности. Допускается хранение наборов при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 дней.

Срок годности набора – 12 месяцев.

Рабочий раствор можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в защищенном от света 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 защищенном от света 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.

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

По вопросам, касающимся качества набора ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-4-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 стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» Росздравнадзора по адресу:

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

Тел: (095) 120-60-95, 120-60-96.

Директор производства

ООО «Ольвекс Диагностикум»

Юшин К.В.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической

лабораторной диагностики РМ ДПО

д.м.н., профессор



Долгов В.В.

Подпись	<u>В. В. Долгов</u>
удостоверяю: специалист по	
кадровой работе ГОУ ДПО	
РМАПО Росздрава	
подпись:	<u>Метелко Г. В.</u>