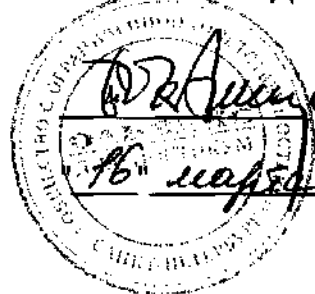


УТВЕРЖДЕНА

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 методом по конечной точке
(ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-2-ОЛЬВЕКС)

Назначение

Набор ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА-2-ОЛЬВЕКС предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы методом по конечной точке в сыворотке и плазме крови человека в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике.

Набор рассчитан на проведение 200 определений при конечном объеме реакционной смеси 5,55 мл.

Принцип метода

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



Количество образовавшегося р-нитрофенола прямо пропорционально активности щелочной фосфатазы и определяется фотометрически при длине волны 405 (380 – 430) нм.

Состав набора

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

- реагент 1 (глициновый буфер), содержащий глицин, 55 ммоль/л; магния хлорид 6-водный, 0,26 ммоль/л; азид натрия, 0,3 г/л; натрия гидроксид до pH 10,4 – 1 флакон (80 мл);
- реагент 2 (натрия гидроокись), содержащий натрия гидроксид, 0,2 моль/л – 1 флакон (100 мл);
- реагент 3 (р-нитрофенилфосфат), содержащий р-нитрофенилфосфат, 27,6 ммоль/л; натрия гидроксид 10 ммоль/л – 1 флакон (20 мл).
- калибратор, содержащий 4-нитрофенол, 50 мкмоль/л; натрия гидроксид, 20 ммоль/л; готов к применению – 1 флакон (10 мл).

Аналитические характеристики

Линейная область определения активности щелочной фосфатазы – в диапазоне от 150 до 2500 нмоль/(с×л), отклонение от линейности – не более 10%.

Чувствительность определения – не более 100 нмоль/(с×л).

Коэффициент вариации результатов определений – не более 10%.

Качество набора может проверяться при помощи отечественных или зарубежных контрольных сывороток, аттестованных данным методом.

Нормальные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови составляют от 278 до 830 нмоль/(с×л) для взрослых, от 830 до 2490 нмоль/(с×л) для детей до 1 года, от 560 до 1660 нмоль/(с×л) для детей от 1 года до 12 лет.

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента.

Анализируемые образцы

Сыворотка или гепаринизированная плазма крови без следов гемолиза.

Активность фермента сохраняется 7 дней при температуре +2 – 8°C. При длительном хранении активность фермента возрастает!

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, или фотоэлектроколориметр, длина волны 380 – 430 нм, кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- термостат, поддерживающий температуру $+37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- колбы вместимостью 100 мл;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5 – 5,05 мл;
- пробирки стеклянные химические вместимостью 5,0 – 10 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки резиновые или пластиковые.

Подготовка к анализу

Калибратор готов к применению.

Перед определением содержимое флакона 2 (или аликвоту) разводят дистиллированной водой в соотношении 1:9.

Полученный раствор реагента 2 можно хранить при комнатной температуре (+18 – 25°C) в плотно закрытом полиэтиленовом флаконе.

Перед проведением анализа смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 3 в соотношении 4:1.

Полученный рабочий раствор можно хранить при температуре +2 – 8°C в защищенном от света месте в плотно закрытом полиэтиленовом флаконе не более 10 дней.

Построение калибровочного графика

Подготовить пробы в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

№ пробы	Калибратор, мл	Разведенный реагент 2, мл	Ферментативная активность нмоль/(с×л)
1	0,5	5,05	278
2	1,0	4,55	556
3	1,5	4,05	834
4	2,5	3,05	1390
5	3,5	2,05	1946
6	4,5	1,05	2502

Пробы тщательно перемешать и измерить оптическую плотность калибровочных проб против разведенного реагента 2 при длине волны 405 (380 – 430) нм в кювете с длиной оптического пути 1,0 см.

Построить калибровочный график, откладывая на оси ординат значения оптической плотности для каждой пробы, а на оси абсцисс – соответствующие им значения активности щелочной фосфатазы.

Проведение анализа

При проведении анализа руководствоваться табл. 2.

Таблица 2

Компоненты реакционной среды	Опытная проба	Контрольная проба
Рабочий раствор, мл	0,5	0,5
Сыворотка крови, мл	0,05	-
Пробы тщательно перемешать и инкубировать в течение 30 минут при температуре +37°C.		
Разведенный реагент 2, мл	5,0	5,0
Сыворотка крови, мл	-	0,05

Пробы тщательно перемешать и измерить оптическую плотность опытной пробы против соответствующей контрольной пробы при длине волны 405 (380 – 430) нм.

Расчеты

Активность щелочной фосфатазы рассчитать по калибровочному графику.

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2 – 8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 12 месяцев.

Рабочий раствор можно хранить при температуре +2 – 8°C в защищенном от света месте в плотно закрытом флаконе не более 10 дней.

Калибратор после вскрытия можно хранить при температуре +2 – 8°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-2-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»

Кузьменков Ю.М.

«Согласовано»

Заведующий кафедрой клинической
лабораторной диагностики

д.м.н., профессор



Долгов В.В.

Подпись	<i>V. B. Danok</i>
удостоверяю: специалист по	
кадровой работе ГОУ ДПО	
РМАПО Росздрав	
подпись:	<i>Медведев Г.В.</i>

Пронумеровано и прошнуровано
в количестве
листов

Генеральный директор

С.Н. Чавкин

