

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____ -Пр/09



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Управляющей компании

ООО «Эйлитон» - ООО «Юнимед-менеджмент»

А.Н.Шибанов

2009г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови человека кинетическим методом «ЩФ-UTS»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке или плазме крови человека кинетическим методом в клинико-диагностических и биохимических лабораториях. Набор разработан согласно рекомендациям Немецкого Общества Клинической химии (DGKC).

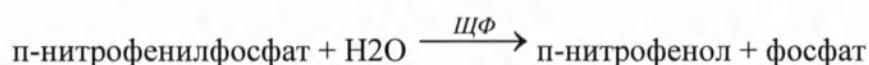
1.2. Причины повышенного уровня щелочной фосфатазы в плазме: костная болезнь Педжета, обструктивное заболевание печени, гепатит, гепатотоксичность, вызванная приемом лекарственных препаратов или остеомалация. Причины пониженного уровня щелочной фосфатазы в плазме: гипотиреоз, дефицит витамина С.

1.3. Набор рассчитан, в зависимости от варианта комплектации, на проведение 100 (комплект 1); 200 определений (комплект 2) или 500 определений (комплект 3) при расходе 1,2 мл реагента на один анализ.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Щелочная фосфатаза (ЩФ) катализирует гидролиз п-нитрофенилфосфата при pH 10,4, с образованием эквимольного количества п-нитрофенола и фосфата, согласно следующей реакции:



Один из продуктов реакции, п-нитрофенол, окрашен в желтый цвет, и скорость его образования, прямо пропорциональная каталитической активности щелочной фосфатазы, измеряется фотометрически кинетическим методом при длине волны 405 нм.

2.3. Состав набора

Компоненты и их состав:

Наименование	Состав	Концентрация
Реагент 1 (P1) Буферный раствор	диэтаноламин (ДЭА), pH 10,4, магний хлористый	1 ммоль/л 0,5 ммоль/л
Реагент 2 (P2) Субстрат	п-нитрофенилфосфат	10 ммоль/л

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Набор обеспечивает линейную область определения активности щелочной фосфатазы от 10,0 Е/л до 825 Е/л, отклонение от линейности не превышает 5%.

- 3.2. Чувствительность – не более 10 Е/л.
- 3.3. Воспроизводимость - коэффициент вариации результатов определений – не более 5%.
- 3.4. Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.
- 3.4. Для калибровки автоматизированных фотометрических систем рекомендуется использовать сывороточные калибраторы, аттестованные по значению активности ЩФ данным методом (DGKC).
- 3.5. Нормальные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке или плазме взрослого человека составляют до 270 Е/л.
- 3.6. Рекомендуется в каждой лаборатории уточнить диапазон значений нормальных величин для обследуемого контингента людей.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).
- 4.2. Образующийся в ходе реакции п-нитрофенол опасен для здоровья в случае длительного воздействия. В случае контакта с кожей и слизистыми – обильно промыть водой, в случае проглатывания – обратиться за медицинской помощью.
- 4.3. 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.).
- 4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Спектрофотометр, программируемый фотометр или анализатор, длина волны 405 нм, термостатируемая при $+37^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ кювета с длиной оптического пути 10 мм*
- Термостат или водяная баня, обеспечивающие температуру $+37^{\circ}\text{C}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$
- Секундомер
- Пипетки, позволяющие отбирать объемы жидкости 20 и 1200 мкл
- Цилиндры мерные объемом 25 и 100 мл
- Колба коническая вместимостью не менее 150 мл
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор)
- Вода дистиллированная или деионизированная.

Перчатки резиновые или пластиковые

***Внимание:** при использовании кювет с длиной оптического пути, отличной от 10 мм, требуется перерасчет фактора набора. При использовании биохимического анализатора с ненормированной длиной оптического пути требуется калибровка по сывороточным калибраторам, аттестованным по значению активности ЩФ данным методом.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

- 6.1. Негемолизированная сыворотка или плазма крови.
- 6.2. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.
- 6.3. Образцы сыворотки и плазмы крови стабильны при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ – не более 7 суток, 2 месяца при -20°C .

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. **Приготовление рабочего реагента:** смешать в колбе конической 4 объема Реагента 1 и 1 объем Реагента 2, отмеренные мерными цилиндрами. Раствор рабочего реагента стабилен 30 суток при температуре 2-8 °С или 10 суток при 18-25 °С.

7.2. Раствор рабочего реагента прогреть до +37 °С и проинкубировать не менее 10 минут.

7.3. Образцы сыворотки или плазмы проинкубировать при комнатной температуре в течение 2 ч.

7.4. Компоненты реакционной смеси отбирать в объемах, указанных в таблице:

Наименование	Объем, мкл
Рабочий реагент	1200
Сыворотка или плазма крови	20

7.5. Пробы перемешать и инкубировать при температуре +37 °С в течение 1 минуты.

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:60).

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_0) при температуре +37° С, при длине волны 405 нм против воздуха.

8.2. Включить таймер и через 1, 2 и 3 минуты (точно!) аналогично измерить оптическую плотность анализируемого образца (D_1 , D_2 и D_3).

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать среднее изменение оптической плотности пробы в минуту (ΔD):

$$\Delta D = [(D_1 - D_0) + (D_2 - D_1) + (D_3 - D_2)] / 3$$

9.2. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке или плазме крови А (Е/л) определить по формуле:

$$A = 3300 \times \Delta D$$

где 3300 – фактор пересчета для выражения активности щелочной фосфатазы в Е/л.

9.3. Если вычисленное значение ΔD превышает величину 0,25 ед. опт. плотн./мин, развести исследуемый образец физиологическим раствором в 10 раз, повторить анализ, а результат определения умножить на 10.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1. Набор реагентов «ЩФ-UTS» должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре +2-8 °С в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Срок годности набора 12 месяцев.

10.3. Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре 2–8 °С в плотно закрытых флаконах в темном месте в течение всего срока годности набора.

10.4. Рабочий реагент можно хранить в плотно закрытом флаконе при температуре 2–8 °С не более 30 суток или при комнатной температуре (18–25°С) не более 10 суток.

10.5. Оптическая плотность рабочего реагента при 405 нм должна составлять не более 1,3 ед. опт. плотн. (при использовании кювет с длиной оптического пути 10 мм).

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

Факс: (495) 564-86-41; E-mail: office@unimeda.ru; <http://www.unimeda.ru>

ООО «ЭЙЛИТОН»

«СОГЛАСОВАНО»

ГБОУ ДПО «РМАПО Росздравнадзора»

2009 г



Подпись: *В.В. Яковлева*
устанавливаю; специалист по
кадровой работе ГОУ ДПО
РМАПО Росздрава
подпись: *И.И. Т. Исаев*
18.05.2009.

