

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

«13» 06 2024 г.

М.П.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови IFCC методом (Щелочная фосфатаза IFCC)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови IFCC методом «Щелочная фосфатаза IFCC» (далее по тексту – набор) предназначен для определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке и плазме крови человека кинетическим IFCC методом.

1.2. Набор выпускается в шести вариантах комплектации:

Вариант комплектации	Количество определений, от	Расход P1 на одно определение, мл	Фасовка	Используемый анализатор
1	400	0,2	2×40 мл (P1); 2×10 мл (P2)	Любой
2	800	0,2	2×80 мл (P1); 2×20 мл (P2)	Любой
3	1070	0,16	4×48 мл (P1); 4×14 мл (P2)	MIURA (Миура)
4	2710	0,16	6×78 мл (P1); 3×42 мл (P2)	ILab Taurus (Таурус)
5	1425	0,16	4×60 мл (P1); 3×20 мл (P2)	BA400
6	1038	0,16	6×36 мл (P1); 6×10 мл (P2)	Aspect (Аспект)

Количество определений зависит от объема фасовки (варианта комплектации), расхода реагента (P1) и реагента (P2) на одно измерение и от технических характеристик используемого биохимического анализатора при сохранении соотношения образец: Реагент 1: Реагент 2.

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: нач. отдела биохимии, к.б.н. Г.Е. Яковлевой, старшим научным сотрудником С.А. Дегтевой.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип действия

Щелочная фосфатаза гидролизует в щелочных условиях п-нитрофенилфосфат с образованием п-нитрофенола и фосфата. Скорость образования окрашенного п-нитрофенола прямо пропорциональна активности щелочной фосфатазы в пробе и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

2.2. Состав набора

В состав набора входят следующие компоненты:

– реагент 1 (P1): буферный раствор, содержащий 2-амино-2-метил-1-пропанол, pH 10,4; магний уксуснокислый 4-водный; цинк сернокислый 7-водный; N-(2-гидроксиэтил)-этилендиаминтриуксусной кислоты тринатриевой соли гидрат; натрия азид (0,09 %);

– реагент 2 (P2) – раствор, содержащий п-нитрофенилфосфата динатриевую соль 6-водную; натрия азид (0,09 %).

Состав вариантов комплектации:

1) – реагент 1 – 2 флакона (по 40 мл);

– реагент 2 – 2 флакона (по 10 мл);

2) – реагент 1 – 2 флакона (по 80 мл);

– реагент 2 – 2 флакона (по 20 мл);

3) – реагент 1 – 4 флакона (по 48 мл);

– реагент 2 – 4 флакона (по 14 мл);

для автоматического анализатора MIURA;

4) – реагент 1 – 6 флаконов (по 78 мл);

– реагент 2 – 3 флакона (по 42 мл);

для автоматического анализатора ILab Taurus;

5) – реагент 1 – 4 флакона (по 60 мл);

– реагент 2 – 3 флакона (по 20 мл)

для автоматического анализатора BA400.

6) – реагент 1 – 6 флаконов (по 36 мл);

– реагент 2 – 6 флаконов (по 10 мл)

для автоматического анализатора Aspect.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.* Чувствительность - не более 2 Е/л.

3.2.* Линейность в диапазоне активности ЩФ 20-1500 Е/л – отклонение не более 5 %.

3.3.* Тест на «открытие» - отклонение не более 5 %.

3.4.* Коэффициент вариации результатов измерений - не более 5%.

3.5.* Допустимый разброс результатов при параллельных определениях одной пробы

разными наборами одной серии - не более 5%.

3.6. Диапазон измерения –2-1500 Е/л

3.7. Нормальные величины активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови:

– женщины – 35-104 Е/л

– мужчины – 40-129 Е/л.

– дети:

Возраст	Женщины					Мужчины				
	Нижняя граница	Верхняя граница	Кол-во образцов	Доверительный интервал нижней границы	Доверительный интервал верхней границы	Нижняя граница	Верхняя граница	Кол-во образцов	Доверительный интервал нижней границы	Доверительный интервал верхней границы
0-14 дней	90	273	155	83-104	257-274	90	273	155	83-104	257-274
От 15 дн. до < 1 года	134	518	147	108-153	466-570	134	518	147	108-153	466-570
От 1 года до < 10 лет	156	369	391	145-170	362-391	156	369	391	145-170	362-391
От 10 до < 13 лет	141	460	154	114-171	424-476	141	460	154	114-171	424-476
От 13 до < 15 лет	62	280	68	56-68	254-301	127	517	66	112-149	481-546
От 15 до < 17 лет	54	128	74	50-58	122-133	89	365	64	84-97	329-388
От 17 до < 19 лет	48	95	40			59	164	54		

В таблице приведены данные исследования референтных интервалов активности щелочной фосфатазы детей на анализаторе Abbott ARCHITECT c8000 по программе CALIPER (Канада).

Рекомендуется в каждой лаборатории при использовании набора уточнить диапазон нормальных величин активности щелочной фосфатазы у исследуемого контингента людей.

* по ГОСТ Р 51352-2013.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Реагент 1 и реагент 2 содержат натрия азид (0,09%). При работе с набором следует избегать разбрызгивания и попадания компонентов набора на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.4. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

4.5. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

4.6. Дезинфекцию посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми образцами, следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ:

– биохимический анализатор* (длина волны 405 нм, кювета с длиной оптического пути не менее 5 мм), поддерживающий температуру жидкости в кювете в процессе анализа $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (для вариантов комплектации 1 и 2);

– биохимический анализатор MIURA (для варианта комплектации 3);

– биохимический анализатор ILab Taurus (для варианта комплектации 4);

– биохимический анализатор BA400* (для варианта комплектации 5);

– биохимический анализатор Aspect* (для варианта комплектации 6);

– дозаторы механические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 1-25, 20-200 и 100-1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов дозирования (погрешность не более 1,5%);

– пробирки стеклянные вместимостью 5,0-10 мл;

– перчатки медицинские диагностические одноразовые;

– термостат;

– раствор натрия хлорида изотонический 0,9 % для инъекций;

– таймер;

– дезинфицирующий раствор.

* Примечание. Допускается применение оборудования другого типа, по своим характеристикам не уступающего рекомендуемому.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для проведения анализа следует использовать негемолизированную сыворотку,

гепаринизированную плазму крови человека.

Образцы сыворотки и плазмы крови можно хранить при температуре от 2 до 8 °С – не более 7 сут; при температуре минус 20 °С и ниже не более 2 мес. Повторное замораживание не допускается.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

7.1. Однореагентная процедура (запуск реакции образцом) (для вариантов комплектации 1 и 2).

Объединить реагент 1 с реагентом 2 в соотношении 4:1 и тщательно перемешать.

Приготовленный рабочий раствор реагентов можно хранить в плотно закрытом виде в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С не более 1 мес или при температуре от 18 до 25 °С не более 5 дней.

Перед началом работы рабочий раствор реагентов нагреть до температуры анализа $37 \pm 0,5$ °С. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы (смеси рабочего раствора реагентов и образца) $37 \pm 0,5$ °С.

К 500 мкл рабочего раствора реагентов добавить 10 мкл анализируемого образца, перемешать. Через 1 мин начать считывание оптической плотности (E_t) через равные интервалы времени (t , сек) в течение 2 минут. Количество интервалов времени (n) должно быть не менее трех.

Примечание: Расход рабочего раствора реагентов на одно измерение зависит от используемого биохимического анализатора, количество рабочего раствора реагентов и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец : рабочий раствор реагентов - 1:50).

7.2. Двухреагентная процедура (запуск реакции субстратом).

Реагенты готовы к использованию.

Перед началом работы реагенты нагреть до температуры анализа $37 \pm 0,5$ °С. На протяжении всего анализа поддерживать температуру пробы (смеси реагентов и образца) $37 \pm 0,5$ °С.

К 400 мкл реагента 1 добавить 10 мкл анализируемого образца, перемешать. Инкубировать пробу в течение 1-5 мин при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Добавить 100 мкл реагента 2, перемешать. Через 1 мин начать считывание оптической плотности (E_t) через равные интервалы времени (t , сек) в течение 2 минут. Количество интервалов времени (n) должно быть не менее трех.

Примечание. Расход реагента 1 (P1) и реагента 2 (P2) на одно измерение зависит от используемого биохимического анализатора, количество реагента и анализируемого образца может быть пропорционально изменено (при сохранении соотношения образец : реагент 1 : реагент 2 - 1:40:10).

8. РАСЧЕТЫ

Рассчитать среднее изменение оптической плотности анализируемой пробы за 1 минуту ($\Delta \bar{E} / \text{мин}$) по формуле:

$$\Delta \bar{E} / \text{мин} = \frac{60}{n \times t} \sum_{i=1}^n \Delta E_i$$

где: ΔE_i – изменение оптической плотности пробы за интервал времени t , ед. опт. плотн;

n – количество интервалов времени;

Активность ЩФ (A) в анализируемом образце, Е/л, определить по формуле:

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

где: $\Delta \bar{E} / \text{мин}$ – среднее изменение оптической плотности за 1 мин в анализируемой пробе;

F – фактор пересчета для выражения активности ЩФ в Е/л. $F=2757$ (при определении в кювете с длиной оптического пути 1 см).

Для получения результатов в мккат/л необходимо полученный результат умножить на 0,01667.

Если величина активности ЩФ в анализируемом образце превышает 1500 Е/л, образец следует разбавить в 5 раз раствором натрия хлорида изотонического 0,9 % для инъекций, измерения повторить, полученный результат умножить на 5.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 сут.

9.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. Срок годности набора – 24 месяца со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.4. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытом виде, в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора.

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

9.6. При работе на автоматических биохимических анализаторах рекомендуется использовать калибратор на основе сыворотки крови, аттестованный данным методом и зарегистрированный в

Российской Федерации.

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

9.8. Набор предназначен для однократного применения.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

10.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «Щелочная фосфатаза IFCC», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492, тел. (383) 227-75-50, тел./факс (383) 252-51-77.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
	Изготовитель		Дата изготовления
	Код партии		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Осторожно		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Температурный диапазон

Старший научный сотрудник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест»



С.А. Дегтева

Начальник отдела биохимии
АО «Вектор-Бест», к.б.н.



Г.Е. Яковлева

«СОГЛАСОВАНО»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.И. Пospelova

2024 г



Пронумеровано, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрав России

Захарова Л.Н.

13 06 2024 г.

