

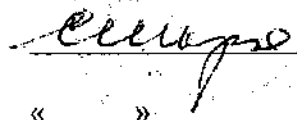
УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 2009 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Президент ЗАО «ЭКОлаб»

 С. Г. Марданлы
« _____ » _____ 2009 г.

**ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ**

(«ЩФ - кинетика»)

1. Назначение

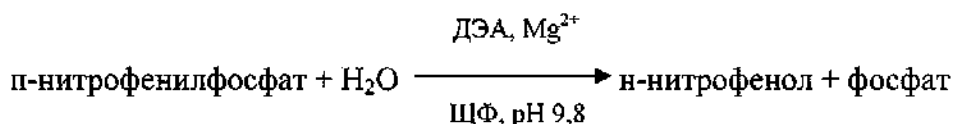
Набор предназначен для количественного определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови в клиничко-диагностических и биохимических лабораториях.

Набор выпускается в двух вариантах комплектации и рассчитан на проведение 80 и 180 определений при расходе 1,0 мл рабочего раствора реагентов на один анализ.

2. Характеристика

2.1. Принцип действия

Кинетическое спектрофотометрическое определение активности ЩФ основано на регистрации увеличения оптической плотности опытного образца при 405 нм в результате протекания следующей реакции:



Скорость образования окрашенного п-нитрофенола пропорциональна активности ЩФ.

2.2. Состав набора

- Реагент 1 – диэтаноламиновый буферный раствор (диэтаноламин, 1 моль/л; магний хлористый 6-водный, 0,5 ммоль/л; кислота янтарная, 0,05 моль/л; натрий хлористый, 0,086 моль/л), рН 9,8 - 4 флакона (по 20 мл) – комплект 1 и 2 флакона (по 90 мл) – комплект 2.
- Реагент 2 – п-нитрофенилфосфат - субстрат - 4 флакона (по 0,3 ммоль) – комплект 1 и 6 флаконов (по 0,45 ммоль) – комплект 2.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора

Линейность в диапазоне от 50 Е/л до 1000 Е/л; отклонение - не более 5 %.

Чувствительность - не более 40 Е/л.

Коэффициент вариации результатов определения - не более 5 %.

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

Нормальные значения содержания щелочной фосфатазы:

- в сыворотке крови:

взрослые	- 70 – 306 Е/л;
дети	- 210 – 900 Е/л.

Рекомендуется в каждой лаборатории определить диапазон нормальных величин для обследуемого контингента.

4. Меры предосторожности при работе с набором

Потенциальный риск применения набора - класс 2а.

Реагент 2 - п-нитрофенилфосфат - токсичное вещество. При работе с ним следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды. При проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

Меры предосторожности - соблюдение «Правил 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 надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

5. Оборудование, материалы и реагенты

- Фотометрическое оборудование, длина волны 405 нм, термостатируемая кювета с длиной оптического пути 1,0 см;
- таймер;
- пипетки позволяющие отбирать объемы жидкости 1000 мкл и 20 мкл;
- вода дистиллированная;
- 0,9 % раствор натрия хлористого (физиологический раствор);
- перчатки резиновые или пластиковые.

6. Анализируемые образцы

Негемолизированная сыворотка крови. Плазму использовать нежелательно, так как многие антикоагулянты мешают определению ЩФ.

Сыворотку крови можно хранить при комнатной температуре 6 час. и при температуре (2-8) °С в течение 5 сут.

7. Проведение анализа

7. 1. Приготовление рабочего раствора реагентов

Комплект 1

К содержимому одного флакона с реагентом 2 добавить содержимое одного флакона с реагентом 1, растворить при перемешивании.

Комплект 2

К содержимому одного флакона с реагентом 2 добавить 30 мл реагента 1, растворить при перемешивании.

Рабочий раствор реагентов можно хранить при температуре (2-8) °С в плотно закрытом флаконе не более 10 сут. или 3 мес.- ниже 0 °С.

7.2. Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий раствор реагентов довести до температуры $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Рабочий раствор реагентов и анализируемые пробы отмерить в количествах, указанных в таблице.

Таблица	
Отмерить, мкл	Опытная проба
Рабочий раствор реагентов	1000
Сыворотка крови	20

Примечание. При использовании кюветы меньшего объема расход реагента может быть уменьшен при сохранении указанных выше соотношений.

Перемешать и поместить в термостатируемое отделение при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Через 1 мин измерить оптическую плотность пробы (E_{np}). Измерение оптической плотности повторить 3 раза с интервалом в 1 мин.

8. Регистрация результатов

Длина волны: 405 нм;

Длина оптического пути: 1,0 см;

Температура анализа: $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

Измерение: относительно воздуха.

9. Учет результатов реакции

Рассчитать изменение оптической плотности в минуту (ΔE_i) для каждого определения по формуле (1):

$$\Delta E_1 = E_2 - E_1, \quad \Delta E_2 = E_3 - E_2, \quad \Delta E_3 = E_4 - E_3 \quad (1),$$

где E_1 - значение оптической плотности пробы после инкубации (задержка);

$E_{2,3,4}$ - значение оптической плотности пробы после 1, 2, 3 минуты реакции, соответственно.

Рассчитать среднее арифметическое значение изменения оптической плотности в минуту ($\Delta \bar{E}_{np} / \text{мин}$) для анализируемой пробы по формуле (2):

$$\Delta \bar{E}_{np} / \text{мин} = \frac{\Delta E_1 + \Delta E_2 + \Delta E_3}{3} \quad (2),$$

где $\Delta E_1, \Delta E_2, \Delta E_3$ - изменения оптической плотности проб в первую, вторую и третью минуты реакции;

3 - количество минут, в течение которых проводилось измерение.

Рассчитать активность ЩФ (А, Е/л) по формуле (3):

$$A = \Delta \bar{E}_{np} / \text{мин} \times 2757 \quad (3),$$

где 2757 - фактор расчёта активности ЩФ, Е/л.

Примечание. 1 Е/л = 16,67 нмоль/с $\times$ л (Катал).

