



Инструкция и адаптационная методика по применению набора «Щелочная фосфатаза»

Клиническое значение:

Щелочная фосфатаза – это фермент, который находится практически во всех тканях человека, но больше всего его вырабатывается в печени, костях, кишечнике, эндометрии (плаценте) и легких.

Информативны как повышение, так и понижение активности щелочной фосфатазы. Активность фермента увеличивается при заболеваниях костей (саркома, миеломная болезнь, болезнь Педжета), «почечном рахите», заболеваниях печени (гепатиты, инфекционный мононуклеоз, цирроз, ЦМВ у детей), язвенном колите, инфаркте легкого и почки и др. Снижение активности щелочной фосфатазы наблюдается при цинге, выраженной анемии, кретинизме, гипотиреозидизме.

Диагноз не должен ставиться на основании одного теста. Необходимо учитывать результаты других исследований и клиническую картину.

Принцип метода:

Щелочная фосфатаза (ЩФ) катализирует гидролиз 4-нитрофенилфосфат щелочной среде (рН 10.4):



4-нитрофенилфосфат + H₂O → 4-нитрофенол + фосфат

Скорость образования 4-нитрофенола пропорциональна каталитической активности щелочной фосфатазы в образце, что измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

Набор предназначен для использования на ручных, полуавтоматических и автоматических биохимических анализаторах.

Состав набора*:

Наименование	Реагент 1	Реагент 2
Состав	ДЭА буфер рН 10,4 ± 0,1 Ацетат магния Сульфат цинка Консервант	4-нитрофенилфосфат Консервант
Варианты объемов	80 мл	20 мл
	160 мл	40 мл
	240 мл	60 мл
	400 мл	100 мл

* - объем реагентов во флаконе и количество флаконов может варьироваться в зависимости от каталожного номера.

По желанию заказчика набор может поставляться с калибровочным и контрольным материалом.

Подготовка реагентов к применению и их стабильность:

Запечатанные флаконы стабильны до окончания срока годности при хранении при 2-8°C (18 месяцев от даты производства).

При работе с отдельными реагентами: Реагент 1, Реагент 2 готовы к применению. После вскрытия флакона стабильны при температуре от 2°C до 8°C в течение двух месяцев. Хранить в

темном месте. Флаконы стабильны на борту анализатора при температуре от 2°C до 8°C в течение 2 месяцев.

При работе с Рабочим реагентом: для приготовления Рабочего реагента необходимо смешать Реагент 1 и Реагент 2 в соотношении 4:1. Стабильность Рабочего реагента – 1 месяц при температуре 2°C - 8°C или 10 дней при комнатной температуре

Признаки непригодности реагентов для применения:

- наличие в растворе реагента мутности;
- оптическая плотность Рабочего реагента (длина волны 405 нм, длина оптического пути 1 см) ≥ 1,3.

Меры предосторожности:

Все компоненты в используемых концентрациях не токсичны. При работе с наборами реагентов следует применять средства индивидуальной защиты согласно ГОСТ 12.4.103. Допускаются к применению перчатки медицинские одноразовые и халаты медицинские, отвечающие действующим ТНПА Республики Беларусь и имеющие документы, подтверждающие качество и безопасность в области применения.

При работе с наборами следует соблюдать правила техники безопасности в соответствии с СНИП «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 2 от 6 января 2017 г.

Утилизация не использованных либо с истекшим сроком годности реагентов проходит в соответствии с СНИП «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь №14 от 7 февраля 2018 г.

Образцы и их стабильность:

Негемоллизированная сыворотка или плазма крови. Не использовать ЭДТА или оксалат в качестве антикоагулянта. Отделить сгусток и охладить как можно скорее.

Стабильность образцов – 3 дня при температуре от 2°C до 8°C.

Методика для ручных и полуавтоматических анализаторов.

Необходимое, но не предоставляемое оборудование:

- спектрофотометр с термостатируемым кюветным отделением, позволяющий проводить измерения при длине волны 405 нм и длине оптического пути 1 см;
- дозаторы с наконечниками, позволяющие отбирать 0,02 мл, 1 мл, 0,01 мл, 0,5 мл;
- секундомер.

Ход анализа:

Условия проведения анализа:

- длина волны – 405 нм;
- длина оптического пути – 1 см;
- температура - 37°C;

Анализатор обнуляют относительно дистиллированной воды.

Прогреть Рабочий реагент до 37°C.

Внести в кюветы:	Макрометод	Полумикрометод
Рабочий реагент, мл	1	0,5
Сыворотка, мл	0,02	0,01

Перемешивают и инкубируют 1 минуту. Измеряют оптическую плотность каждой смеси (A₁) и еще через 3 минуты измеряют (A₂).

Результаты:

Для каждого образца рассчитывают ΔA/мин= (A₁- A₂)/3.

Активность щелочной фосфатазы в образце рассчитывают по формуле:

активность (Е/л)= ΔA/мин x F,

Где F – фактор: F=3300;

Калибровка: Корректнее определять активность фермента относительно калибратора. В качестве калибратора рекомендуем использовать калибровочную сыворотку уровня 2 или 3 производства Randox, Великобритания (метод – Diethanolamine buffer DEA 37°C) или производства Spinreact (Испания).

Контроль качества:

Контроль качества измерений проводится с использованием контрольного материала двух уровней. При непрохождении контролей проводится перекалибровка. После перекалибровки следует снова протестировать контроли. В случае непрохождения контроля качества после перекалибровки, необходимо проверить исправность анализатора и наличие признаков непригодности реагентов.

Каждая лаборатория проводит контроль качества согласно своей утвержденной схеме.

Рекомендуем применять для контроля качества контрольные сыворотки производства Randox (Великобритания), Spinreact (Испания), Comau (Польша).

Референсные значения:

Дети (1-14 лет)	<645 Е/л
Взрослые	98-279 Е/л

Приведенные референсные значения ориентировочные: каждая лаборатория должна сама устанавливать свои референсные значения.

Интерференция:

Фторид, ЭДТА, оксалат, цитрат, используемые в качестве антикоагулянтов, ингибируют щелочную фосфатазу. При гемолизе активность щелочной фосфатазы увеличивается за счет освобождения щелочной фосфатазы из эритроцитов.

*Аналитические характеристики:

Чувствительность: 4 Е/л.

Линейность: до 900 Е/л.

Если активность в образце превышает 900 Е/л, то образец необходимо разбавить раствором хлорида натрия (9 г/л) в соотношении 1:9, а полученный результат умножить на 10.

Точность:

	Воспроизводимость внутри серии		Воспроизводимость межсерийная	
	Среднее (Е/л)	SD	Среднее (Е/л)	SD
282	468	264	451	
9,588	16,380	9,068	16,236	
3,4	3,5	3,7	3,6	
10	10	10	10	

Корреляция:

50 образцов было проанализировано с использованием Набора реагентов для определения щелочной фосфатазы (производства «Диасенс») и другим набором реагентов, разрешенным к применению Министерством здравоохранения РБ.

Коэффициент корреляции: 0,996.

*Данные получены при использовании анализатора Mindray серии BS, для других анализаторов они могут отличаться.

Копирование и передача третьим лицам запрещены!

По вопросам методической помощи и закупки обращаться по телефону: 8017-300-65-11; 8017-320-65-10