

«ПОГОДЖЕНО»

Перший заступник голови Державної
служби України з лікарських засобів

09 листопада 2012 р.

І.Б. Демченко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Головний лікар клінічної лікарні „Феофанія”
Державного управління справами

30 жовтня 2012 р.

І.П. Семенів

REF №HP016.04

ТУ У 24.4-24607793-017-2003

ІНСТРУКЦІЯ ДО НАБОРУ РЕАКТИВІВ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ У СИРОВАТЦІ КРОВІ (КІНЕТИЧНИЙ МЕТОД З ДЕА-БУФЕРОМ)

ПРИЗНАЧЕННЯ

IVD

Набір застосовується для визначення активності лужної фосфатази у сироватці крові людини з п-нітрофенілфосфатом кінетичним методом з ДЕА-буфером в клініко-діагностичних, біохімічних лабораторіях та науково-дослідницькій практиці.

Набір розрахований на **50 визначень (фотометруємий об'єм 1,01 мл)**.

Діапазон визначаємих активностей – від 4 МОд/л до 825 МОд/л.

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Зберігання набору - при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С.

Гарантійний термін придатності – 12 місяців від дня виготовлення.

Набір призначений для застосування *in vitro* професійно навченим лаборантом.

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Лужна фосфатаза в лужному середовищі каталізує перенесення фосфатної групи від п-нітрофенілфосфата до діетаноламіну, звільняючи п-нітрофенол.

Кількість п-нітрофенолу, що утворився в одиницю часу, пропорційна активності ферменту і визначається по зміні оптичної щільності розчину зразка в одиницю часу при довжині хвилі 405 нм.

п-Нітрофенілфосфат + вода → *Лужна фосфатаза* → *п-Нітрофенол + фосфат*

Метод рекомендований Німецьким Національним суспільством клінічної хімії (DGKC).

СКЛАД НАБОРУ

1. ДЕА-буферний розчин: – 1 флакон з (40 ± 1) мл;
- діетаноламін - (1,00 ± 0,05) моль/л,
2. Субстрат (п-нітрофенілфосфат (10,00 ± 0,05) ммоль/л) – 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл.

ОБЛАДНАННЯ

1. Фотометричне обладнання, яке здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжині хвилі **405** нм у діапазоні (0-1,0) од. опт. щільності та довжині оптичного шляху 10 мм.
2. Водяний термостат або баня, які забезпечують інкубацію пробірок при температурі плюс (25±0,1) °С або (30±0,1) °С, або (37±0,1) °С.
3. Піпетки місткістю 1, 0.1 та 5 мл (ГОСТ 29227-91).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

I. Субстратно-буферний розчин. Змішати 4 частини ДЕА-буферного розчину із 1 частиною розчину **Субстрату п-нітрофенілфосфата**. Зберігайте Субстратно-буферний розчин завжди щільно закритим в темряві. Розчин стійкий при зберіганні в холодильнику протягом 10 діб (при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С).

ЗРАЗОК ДЛЯ АНАЛІЗУ

Сироватка, гепаринізована плазма. Використовуйте негемолізовану сироватку, відокремлену від згустка щонайшвидше.

У сироватці лужна фосфатаза стабільна **48 годин** при температурі від плюс 2 °С до плюс 8 °С. Заморожування зразків неприпустимо.

ПРОВЕДЕННЯ АНАЛІЗУ

Витрату реактивів можна масштабувати, виходячи з постійного співвідношення **Субстратно-буферний розчин : Аналізуємий розчин = 60 : 1** (напр. 3,0 мл **Субстратно-буферний розчин** + 0,05 мл сироватки).

Витримати Субстратно-буферний розчин до вибраної температури проведення аналізу **3 хв** в кюветі. Введіть аналізуємий матеріал в **Субстратно-буферний розчин**, ретельно перемішайте та через **1 хв** зчитуйте змінення екстинції з інтервалом **1 хв** (або через інші рівні проміжки часу) на протязі **3 хв** по відношенню до повітря. Розрахуйте середнє змінення екстинції за **1 хв**. ($\Delta E/xv$). Якщо $\Delta E/xv$ перевищує 0,250/xv при фотометруванні або кінетична крива втрачає лінійність, розведіть зразок в 10 разів фізрозчином, виконайте вимірювання проби знов та результат помножьте на 10.

Фотометрування - див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок активності лужної фосфатази ведуть по формулі (1).

в міжнародних одиницях: [МОд/л] [мкмоль/(хв × л)],

$$C = 3300 \times \Delta E/\text{мин} \quad (1)$$

* фактор перерахування одиниць 1 МОд/л = 16,67 нмоль/(с×л) = 0,01667 μ кат/л

Температура	Конверсійний чинник		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1.00	1.22	1.64
30 °C	0.82	1.00	1.33
37 °C	0.61	0.75	1.00

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ ¹⁾

Температура, °C	25°C	30°C	37°C
Діти (1-14 лет)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Дорослі	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Вміст лужної фосфатази в дитячому віці вище і значно варіює.

Дані величини орієнтовні, рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії.

ДІАГНОСТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Фермент присутній практично у всіх тканинах організму, але особливо біля і усередині клітинних мембран, а також в плаценті, епітелії кишечника, ниркових канальцях, остеобластах і печінці. Джерелом сироваткової лужної фосфатази є печінка і кістки.

Підвищення вмісту сироваткової лужної фосфатази може бути викликане наступними причинами:

↑. При загоєнні переломів; первинний і вторинний гіперпаратироїдизм; остеомалія; ювенільний рахіт; метастази раку в кістці; остеогенна саркома; мієломна хвороба; лімфогранулематоз з поразкою кісток; хвороба Гоше з резорбцією кісток; хвороба Педжета; синдром Кушинга; уремична остеодистрофія; поразка ниркових канальців, що поєднується з втратою фосфатів та/або кальцію і що приводять до рахіту з вторинним гіперпаратироїдизмом або без нього; «нирковий рахіт», обумовлений вітамін-D-резистентним рахітом, що поєднується з вторинним гіперпаратироїдизмом; інфекційний мононуклеоз; неускладнений позапечінковий холестаза; цитомегаловірусна інфекція у дітей; холангіт і холангіоліт, гепатоцелюлярний некроз з жовтяницею або без неї; портальний цироз; абсцес печінки; первинна гепатоцелюлярна карцинома; вторинний рак; активна регенерація (проліферація гепатоцитів або жовчних проток); печінкові вузлики (метастази пухлини, кісти, паразити, амілоїд, туберкульоз, саркоїдоз, лейкемія); гепатити, викликані інфекцією, хімікаліями, ліками, серцевою недостатністю; хронічне вживання протисудомних засобів; позапечінковий сепсис; коліт язви; регіонарний ентерит; кишкові бактерійні інфекції; тиреотоксикоз; доброякісна перехідна гіперфосфатаземія; інфаркт легені і нирки; панкреатит, присутність ізоферментів Реган або Нагао; прийом фенітоїна і алкоголю; індукція ферменту. ^{1,5,6)}

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **21.07.2015**

↓. Гіпотирозидизм; цинга; виражена анемія; квашиоркор; ахондроплазія; кретинізм; накопичення радіоактивних речовин в кістках; гіпофосфатаземія; природжена гіпофосфатаземія; дефіцит вітаміну В12 (пернеціозна анемія); недолік цинку і магнію в їжі. 1,5,6)

Фізіологічні зміни, такі як зростання кістки або вагітність, також можуть викликати підвищення рівня лужної фосфатази ⁸.

Клінічний діагноз повинен встановлюватися на основі інтеграції клінічних і лабораторних даних.

ІНТЕРФЕРЕНЦІЯ

Проведенню аналізу перешкоджають: фториди, оксалати, цитрати, ЕДТО як антикоагулянт. Гемоліз перешкоджає проведенню аналізу, оскільки лужна фосфатаза присутня в еритроцитах ^{1,2)}.

На хід визначення можуть робити вплив деякі ліки і речовини. ^{3,4)}

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для контролю ходу реакції і процедури вимірювання рекомендується використовувати контрольні сироватки із значеннями активності лужної фосфатази, визначеними даним методом. Наприклад, «Біоконт С» (Росія), "ФілоНорм", "ФілоПат"(Україна).

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості.

ПРИМІТКА

Якщо активність проби вище 825 МОд/л , її розводять фізіологічним розчином (0,9% хлориду натрію). Результат перемножують на коефіцієнт розведення.

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	<i>Лужна фосфатаза ДЕА</i>
Тип аналізатора (напівавтомат/автомат)	будь-який
Метод виміру	Кінетика
Зміна оптичної щільності	Зростає
Довжина хвилі, нм	405
Вимір проти	повітря
Температура реакції, °С	37
Чинник	3300
Концентрація стандарту	-
Співвідношення реагент/проба (мкл/мкл)	600 : 10
Кількість вимірів, не менше	3
Час передінкубації, с	60
Час реакції, с	60
Одиниці виміру	МОд/л
Верхня межа абсорбції контрольної проби, А	2,00
Нижня межа абсорбції контрольної проби, А	1,00
Максимально допустиме $\Delta E/xv$, А	0,250
Межі лінійності	4-825
Максимум норми	279
Мінімум норми	0
Підтвердження лінійності (так/ні)	так

УТИЛІЗУВАННЯ

Всі зразки для аналізу вважають за матеріал, який може бути інфікований, і спільно з можливими залишками реактивів підлягає знищенню відповідно до затверджених внутрішньолікарняних правил.

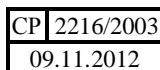
Паперову упаковку здайте в макулатуру, виполоскану тару - в сортоване сміття.

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. ДЕА-буферний розчин включає діетаноламін (їдка речовина). Субстрат включає п-нітрофенілфосфат (отруйна речовина).

ЛІТЕРАТУРА

1. Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
2. Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.
7. Энциклопедия клинических лабораторных тестов (под ред. Н.У.Тица). «Лабинформ», Москва, 1997, стр. 525-526.
8. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994



ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 Дніпропетровськ, вул. Каштанова, 32
Тел./факс: (056) 747-47-76, 747-45-34
Тел.: (093) 573-75-35, (067) 535-15-73, (095) 168-36-54
E-mail: felicit_d@ua.fm <http://www.felicit.com.ua>

Предлагаем Вашему вниманию ассортимент выпускаемой нами продукции

- для выполнения скрининга и количественного определения аналитов на латексных системах:

Для качественного и полуколичественного определения анти-стрептолизина О (АСЛО), ревматоидного фактора (РФ), С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови человека («Филисит-АСЛО- латекс», «Филисит- РФ - латекс», «Филисит- СРБ – латекс»).

- контрольные материалы для оценки выполнения исследований обмена веществ:

«Филисит - СКВ», «ФилоНорм», «ФилоПат», «Калибратор альбумина 1000 мг/л», «Калибраторы белка», «Калибраторы креатинина», «Калибраторы гемихрома», «МультиКалибратор», «Филисит-КГБС», «Калибраторы глюкозы», «Фило - БФК», «Билирубин - калибратор», «Калибраторы гемоглобина», «Калибраторы цианметгемоглобина», «Креатинин - калибратор»

- наборы реактивов для клинической биохимии для анализаторов открытого типа различных изготовителей:

КИНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДИКИ: «Креатинин-КИН», «ЛДГ», «ЛДГ1», «АЛАТ-КИН», «АсАТ-КИН», «Щелочная фосфатаза ДЕА», «Щелочная фосфатаза АМП», « α -Амилаза КИН», «ГГТ-КИН», «Холинестераза- КИН» и

МОНОРЕАГЕНТНЫЕ МЕТОДИКИ (подходят как для ручных методик, так и для анализаторов открытого типа различных изготовителей): «Триглицериды - Ф», «Кальций АРС», «Фосфор-UV», «Альбумин», «Общий белок», «Холестерин Ф», «Холестерин-HDL», «Глюкоза Ф», «Общий белок-УЛ», «Калий», «Кальций», «Магний», «Хлориды-Ф», «Гемоглобин», «Гемоглобин-ГХ», «Мочевая кислота Ф», «Глюкоза МОНО».

- наборы реактивов для клинической биохимии для ручных методик:

«Железо (ЖСС)», «Серогликоиды», «Холестерин», «Общие липиды», «Фруктоза», «Билирубин», «Фосфор», «Хлориды-Т», «Натрий», «Креатинин», «Мочевая кислота», «Мочевина-Д», «Мочевина-У», «Мочевина-ОФА», «Тимоловая проба», «АЛАТ», «АсАТ», «ГГТ», «Щелочная фосфатаза», « α -Амилаза», «Щелочная фосфатаза НФФ», «Холинестераза-АХХ», «Холестерин-HDL Ф», «Холестерин-LDL Ф».

- наборы реактивов для микробиологических исследований: «Набор для окраски по Граму» (три модификации: с Карболовым фуксином по Цилю, с нейтральным красным и с Сафранином), «Карболовый фуксин (1% раствор)», «Набор для окраски по Цилю-Нильсену», «ЛейкоФарб» (набор для дифференциальной окраски лейкоцитов), «РетикулоФарб» (набор для дифференциальной окраски ретикулоцитов и эритроцитов).