«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***

Код за НК 024:2019 – **33165**

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 відповідну кількість визначень активності лужної фосфатази (Див. ***Примітку 2***).

REF	мікро	напівмікро	макро	REF	мікро	напівмікро	макро
HP016.04	**41**	**20**	**13**	*HP016.05*	**83**	**41**	**27**

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

Коефіцієнт варіації визначення - не більше 5 %.

Чутливість [9] на 0,001 од. оптичної щільності/хв – не більше 3,5 МОд/л (405 нм).

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*** тільки кваліфікованим лабораторним персоналом.

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 $\rightarrow^{\textit{Лужна фосфатаза}}$ ***п-Нітрофенол + фосфат***

Метод рекомендований Німецьким Національним суспільством клінічній хімії (DGKC).

СКЛАД НАБОРУ

1. ДЕА-буферний розчин — ***HP016.04*** *- 1 флакон з (40 ± 2) мл;*
   - діетаноламін - (1,00 ± 0,05) моль/л, — ***HP016.05*** *- 2 флакони по (40 ± 2) мл;*
2. Субстрат — ***HP016.04*** *- 1 флакон з (10,0 ± 0,5) мл;*
   (п-нітрофенілфосфат (10,00 ± 0,05) ммоль/л) — ***HP016.05*** *- 2 флакони по (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 **(Можливо використання автоматичного аналізатора. Інструкція для автоматичного аналізатора висилається за замовленням споживача).**
2. Водяний термостат або баня, які забезпечують інкубацію пробірок при температурі плюс (25,0 ± 0,5) ^{o}С або (30,0 ± 0,5) ^{o}С, або (37,0 ± 0,5) ^{o}С.
3. Піпетки місткістю 1, 0.1 та 5 мл (ДСТУ EN ISO 835:2018).

ПРИГОТУВАННЯ РОБОЧИХ РОЗЧИНІВ

І.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, відповідно до аспіраційного об'єму кювети аналізатора, виходячи з постійного співвідношення: **Субстратно-буферний розчин : Аналізуємий розчин = 60 : 1** (напр. **1,2 мл Субстратно-буферний розчину** + **0,02 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***. (ΔЕ/хв). Якщо ΔЕ/хв перевищує 0,250/хв при фотометруванні або кінетична крива втрачає лінійність, розведіть зразок в 10 разів фізрозчином, виконайте вимірювання проби знов та результат помножте на 10.

Фотометрування - див. розділ «Обладнання».

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Розрахунок активності лужної фосфатази ведуть по формулі (1).

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

$$C = \mathbf{3300 \times \Delta E/мин} \qquad (1)$$

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

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

РЕФЕРЕНТНІ ВЕЛИЧИНИ [1)]

Температура, ºС	25ºС	30ºС	37ºС
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, відповідно до правил GLP (Належної Лабораторної Практики) рекомендується визначення власних нормальних величин в кожній лабораторії, характерних для обстежуваного контингенту.

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; остеомаляція; ювенільний рахіт; метастази раку в кістці; остеогенна саркома; мієломна хвороба; лімфогранулематоз з поразкою кісток; хвороба Гоше з резорбцією кісток; хвороба Педжета; синдром Кушинга; уремічна 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 холестаз; 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].

↓. Гіпотироїдизм; цинга; виражена анемія; квашиоркор; ахондроплазія; кретинізм; накопичення радіоактивних речовин в кістках; гіпофосфатаземія; природжена гіпофосфатаземія; дефіцит вітаміну В12 (пернициозна 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 впливати 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: Diacon N, Diacon P (Австрія), TruLab N, TruLab P (Німеччина), «Біоконт С» (Росія), "ФілоНорм", "ФілоПат"(Україна).

Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте обладнання, реактиви та можливі технічні проблеми.

Кожна лабораторія повинна встановити власну внутрішню систему контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

ПРИМІТКИ

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

2. <u>Розраховано при витраті розчинів реагентів 3,6 мл (макро-), 2,4 мл (напівмікро-), 1,2 мл (мікро-).</u>

ПАРАМЕТРИ ПРОГРАМУВАННЯ

Найменування набору реактивів	***Лужна фосфатаза ДЕА***
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 ΔЕ/хв, А	0,250
Межі лінійності	4-825
Максимум норми	279
Мінімум норми	0
Підтвердження лінійності (так/ні)	так

УТИЛІЗАЦІЯ

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

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

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **25.08.2020**

ЗАСТЕРЕЖНІ ЗАХОДИ

1. При роботі використовувати гумові рукавички, заборонено їсти, пити, курити.
2. ДЕА-буферний розчин включає діетаноламін (їдка речовіна). Субстрат включає п-нітрофенилфосфат (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 AACC Press, 1995.
4. Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 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
9. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).

ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика»,
Україна, 49051 м.Дніпро, 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: filicit@ukr.net http://www.felicit.com.ua

Пропонуємо до Вашої уваги асортимент продукції, що випускається нами

НОВИНКИ 2019-2020

- набори реактивів для контролю якості передстерилізаційного очищення та виявлення прихованої крові у біологічному матеріалі ***"ПК АЗОПІРАМ СКРИН"*** та ***"ПК ТОЛІДІН СКРИН".***

- набір реагентів для визначення протромбінового часу плазми та визначення концентрації фібриногену (набір ***"ФІЛОПЛАСТИН"***).

- набір для використання в якості допоміжного реагенту для роботи з реагентами на основі неповних антитіл при визначенні групи крові, при визначенні резус-фактору, скринінгу антитіл і пробі на індивідуальну сумісність методом конглютинації (***"ЖЕЛАТИНУ РОЗЧИН 10 %"***).

- для визначення концентрацій загального та/або прямого білірубіну у сироватці або плазмі крові людини ***"БІЛІРУБІН ДМСО"*** з діметилсульфоксидом (ДМСО).

- для визначення гліколізованого гемоглобіну ("***ГЛІКОГЕМОГЛОБІН ТБК***) у крові людини.

- для визначення сечовини ("***СЕЧОВИНА UV***") у біологічних рідинах кінетичним уреазним методом.

- для виконання скринінгу і кількісного визначення аналітів на латексних системах:

для якісного і напівкількісного визначення анти-стрептолізину О (АСЛ-О), ревматоїдного фактору (РФ), С-реактивного білку (СРБ) в сироватці крові людини (**"Філісіт - АСЛ-О- латекс", "Філісіт - РФ - латекс", "Філісіт - СРБ - латекс"**).

- контрольні матеріали для оцінки виконання досліджень обміну речовин :

"Філісіт-СКВ", "ФілоНорм", "Філо-БФК", "ФілоПат", "Калібратор альбуміну 1000 мг/л", "Калібратори білку", "Білірубін-калібратор", "Мультикалібратор", "Калібратори креатиніну", "Калібратори геміхрома", "Філісіт-КГБС", "Креатинін-калібратор", "Калібратори гемоглобіну", "Калібратори глюкози", "Калібратори ціанметгемоглобіну".

- набори реактивів для клінічної біохімії для *аналізаторів відкритого типу різних виробників*:

КІНЕТИЧНІ МЕТОДИКИ: "Креатинін-КІН", "ЛДГ", "ЛДГ1", "АлАТ-КІН", "АСАТ-КІН", "Лужна фосфатаза ДЕА", "Лужна фосфатаза АМП", "α-АмілазаКІН", "Холінестераза -КІН", "ГГТ-КІН" і

МОНОРЕАГЕНТНІ МЕТОДИКИ (підходять як для ручних методик, так і для аналізаторів відкритого типу різних виробників: "Тригліцериди-Ф", "Кальцій ARS", "Фосфор-UV", "Альбумін", "Загальний білок", "Холестерин Ф", "Холестерин-HDL", "Глюкоза Ф", "Калій", "Магній", "Натрій РН", "Хлориди-Ф", "Гемоглобін", "Гемоглобін-ГХ", "Сечова кислота Ф", "Глюкоза МОНО", "Загальний білок-УЛ".

- набори реактивів для клінічної біохімії для ручних методик:

"Залізо (3333)", "Сироглікоїди", "Кальцій", "Загальні ліпіди", "АлАТ", "ГГТ", "Фруктоза", "Білірубін", "Фосфор", "Креатинін", "α-Амілаза", "АсАТ", "Сечовина-Д", "Лужна фосфатаза", "Сечовина-У", "Сечовина-ОФА", "Тимолова проба", "Білкові фракції", "Холінестераза-АХХ", "Сечова кислота", "Холестерин – HDL Ф", "Холестерин – LDL Ф".

- набори реактивів для мікробіологічних досліджень: ***"Забарвлення за Грамом"*** (три модифікації: з Карболовим фуксином за Цілем, з Нейтральним Червоним і з Сафраніном), ***"Карболовий фуксин (1% розчин)"***, ***"Забарвлення за Цілем-Нільсеном"***, ***"РетикулоФарб"*** (набір для диференціального забарвлення ретикулоцитів і еритроцитів), ***"Забарвлювач за Романовським"*** (набір для диференціального забарвлення формених елементів крові при фарбуванні препаратів периферичної крові, кісткового мозку, інших біопрепаратів).

При виготовленні нашої продукції використовуються високоякісні реактиви провідних фірм, що спеціалізуються на виробництві сировини для діагностичних і аналітичних цілей, таких країн як Австрія, Великобританія, Німеччина, Швейцарія, Японія (наприклад: MERCK, Sigma - Aldrich).

Виробник дотримується принципу безперервного розвитку і залишає за собою право вносити (без попереднього повідомлення) зміни і удосконалення в продукцію.

Виробник залишає за собою право вносити зміни без попереднього повідомлення. Дата останньої перевірки **25.08.2020**

ДЛЯ ОТРИМАННЯ ДЕТАЛЬНІШОЇ ІНФОРМАЦІЇ ПРО ПОЛІПШЕННЯ, МОДИФІКАЦІЇ І СПЕЦИФІКАЦІЇ І, ЯКЩО У ВАС Є ЯКІ-НЕБУДЬ ПИТАННЯ, БУДЬ ЛАСКА, НЕ СОРОМТЕСЯ ЗВЕРТАТИСЯ ДО НАС БЕЗПОСЕРЕДНЬО.