

## ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ.№№ В-12253, В-12254, В-12255, В-12256)

Утверждена приказом Росздравнадзора от 18.12.2009 г. № 10379-Пр/09  
РУ № ФСР 2009/06422 от 18.12.2009 г.

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для кинетического фотометрического определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови в клинико-диагностических лабораториях и в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100, 125, 250 и 500 определений при конечном объеме реакционной смеси 1 мл.

## ПРИНЦИП МЕТОДА

$p$ -нитрофенилфосфат  $\xrightarrow{\text{ЩФ}}$   $p$ -нитрофенол + фосфат  
Скорость изменения оптической плотности раствора пропорциональна активности ЩФ.

## СОСТАВ НАБОРА

Реагент 1 (Р1). АМП-буфер

Реагент 2 (Р2). Субстрат ( $p$ -НФФNa<sub>2</sub>)

Кат.№ Фасовка

В-12253 Р1 80 мл + Р2 20 мл

В-12254 Р1 5х20 мл + Р2 25 мл

В-12255 Р1 200 мл + Р2 50 мл

В-12256 Р1 5х80 мл + Р2 100 мл

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**Чувствительность** – не более 25 Е/л.

**Линейность** – от 30 до 700 Е/л с отклонением не более 7%.

**Коэффициент вариации** – не более 7%.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Во избежание возможного инфицирования при работе с образцами крови необходимо надевать одноразовые резиновые перчатки.

В состав набора входит щелочной раствор АМП-буфера. При попадании его на кожу и слизистые пораженное место следует промыть большим количеством проточной воды.

## ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объемы 0,02 мл, 0,2 - 1,0 мл, термостат, секундомер, пробирки вместимостью 10-20 мл, штатив.

## АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка крови, свободная от гемолиза.

ЩФ стабильна в сыворотке крови в плотно закрытой пробирке при 4-8°C в течение 7 суток, при -20°C – в течение 2 месяцев [1].

## ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

1. Приготовление монореагента (для схемы 1)

Смешать необходимое количество АМП-буфера и субстрата в соотношении 4:1. Реагент стабилен при хранении в посуде из темного стекла при 2-8°C в течение 7 дней, при 18-25°C – в течение 8 часов.

## ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Длина волны 405 (400-425) нм.

Кювета с длиной оптического пути 10 мм.

Температура проведения реакции 37°C.

Приготовить пробы в соответствии со схемой определения (объемы компонентов могут быть пропорционально изменены).

**Схема 1.** Запуск реакции образцом

Раствор	Опытная проба
Монореагент, мл	1,0

*Инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.*

Образец, мл	0,02
-------------	------

*Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы ( $E_1$ ). Через 60 с повторить измерение ( $E_2$ ).*

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ( $E_2 - E_1$ ).

**Схема 2.** Запуск реакции реагентом 2

Раствор	Опытная проба
Реагент 1, мл	1,0

Образец, мл	0,02
-------------	------

*Перемешать, инкубировать 5 мин. при температуре 37°C.*

Реагент 2, мл	0,2
---------------	-----

*Пробы тщательно перемешать. Через 60 с измерить оптическую плотность опытной пробы ( $E_1$ ). Через 60 с повторить измерение ( $E_2$ ).*

Рассчитать изменение оптической плотности за минуту ( $E_2 - E_1$ ).

## РАСЧЁТ

Активность **A** ЩФ при 405 нм рассчитать по формуле:

$$\text{Схема 1} \quad A = 2757 \cdot (E_2 - E_1)$$

$$\text{Схема 2} \quad A = 3300 \cdot (E_2 - E_1)$$

# КлиниТест-Щелочная фосфатаза

## ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

Тип анализатора	Любой
Метод измерения	Кинетика
Длина волны, нм	405 (400-425)
Измерение против	Воздуха или дистилл. воды
Температура реакции	37°C
Единица измерения	Е/л
Число знаков после запятой	0
Изменение оптической плотности	Увеличивается
Фактор для схемы 1	2757*
Фактор для схемы 2	3300*
Соотношение реагент/проба	50:1
Количество измерений, не менее	3
Время преинкубации, с	60
Время реакции, сек	60
Верхний предел абсорбции реагента против воды, Е	1,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, Е	0,0
Предел максимальной абсорбции $\Delta$ Е/мин.	0,26
Границы линейности, Е/л	30-700
Максимум нормы, Е/л	120
Минимум нормы, Е/л	36

\* Для каждого анализатора желательно уточнить фактор пересчёта по контрольным сывороточным калибраторам, аттестованным данным методом.

В случае возникновения каких-либо трудностей можно запросить адаптированную инструкцию по работе с набором «КлиниТест-Щелочная фосфатаза» на вашем анализаторе.

## ПРИМЕЧАНИЯ

1. Если активность ЩФ в исследуемом образце выше 700 Е/л образец развести физраствором в 10 раз, анализ повторить, величину рассчитанной активности умножить на 10.

2. Оксалаты, фториды, ЭДТА, ингибирующие ферменты, мешают определению.

## НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

36-120 Е/л

Рекомендуется в каждой лаборатории уточнять диапазон нормальных величин.

## УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор должен храниться при температуре 2-8°C в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение и транспортирование набора при температуре до +25°C не более 5 суток. Допускается однократное замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при температуре 2-8°C в течение всего срока годности набора.

## КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества может быть проведён по контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Обеспечение качества лабораторных исследований. Пре-аналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 174-175.