

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ (КАТ. №№ В-12263, В-12264, В-12265, В-12266)

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для кинетического фотометрического определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови в научно-исследовательской практике. Набор рассчитан на 100, 125, 250 и 500 определений при конечном объёме 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 (P1). ДЭА-буфер

Реагент 2 (P2). Субстрат (p -НФФNa₂)

Кат. № Фасовка

В-12263 P1 1x80 мл + P2 1x20 мл

В-12264 P1 5x20 мл + P2 1x25 мл

В-12265 P1 1x200 мл + P2 1x50 мл

В-12266 P1 5x80 мл + P2 1x100 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 ДЭА-буфера. При попадании его на кожу и слизистые поражённое место следует промыть большим количеством проточной воды.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Анализаторы открытого типа различных изготовителей, дозаторы, позволяющие отбирать объёмы 0,02 мл, 0,2 мл, 0,8 мл и 1,0 мл, термостат, секундомер.

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

Приготовление монореагента (для схемы 1)

Смешать необходимое количество реагента 1 и реагента 2 в соотношении 4:1. Монореагент стабилен при хранении в посуде из тёмного 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 (объёмы 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 | 0,8 |

| | |
|-------------|------|
| 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 А ЩФ рассчитать по формуле:

$$A = 2757 \cdot (E_2 - E_1)$$

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Если активность ЩФ 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.

КлиниТест-Щелочная фосфатаза

ПАРАМЕТРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКИХ АНАЛИЗАТОРОВ

| | |
|--|---------------------------|
| Тип анализатора | Любой |
| Метод измерения | Кинетика |
| Длина волны, нм | 405 |
| Измерение против | Воздуха или дистилл. воды |
| Температура реакции | 37°C |
| Единица измерения | Е/л |
| Число знаков после запятой | 0 |
| Изменение оптической плотности | Увеличивается |
| Фактор | 2757* |
| Соотношение реагент/проба | 50:1** |
| Количество измерений, не менее | 3 |
| Время преинкубации, сек | 60 |
| Время реакции, сек | 60 |
| Верхний предел абсорбции реагента против воды, Е | 1,0 |
| Нижний предел абсорбции реагента против воды, Е | 0 |
| Предел максимальной абсорбции, ΔЕ/мин. | 0,26 |
| Границы линейности, Е/л | 30-700 |
| Максимум нормы, Е/л | 240 |
| Минимум нормы, Е/л | 80 |

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

**Для схемы 1.

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

НОРМАЛЬНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Справочно

80-240 Е/л

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 однократное замораживание. Реагенты после вскрытия флаконов можно хранить при 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. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 174-175.