

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

РУ № ФСР 2009/06422

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 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 (Р1). АМП-буфер

Реагент 2 (Р2). Субстрат (p -НФФNa₂)

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 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 - 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 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	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, E	1,0
Нижний предел абсорбции реагента против воды, E	0,0
Предел максимальной абсорбции Δ E/мин.	0,26
Границы линейности, E/л	30-700
Максимум нормы, E/л	120
Минимум нормы, E/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. Преаналитический этап. Под ред. В.В. Меньшикова, М., 1999, «Лабинформ», с. 174-175.