ИНСТРУКЦИЯ
к набору реагентов для определения активности щелочной фосфатазы (ЩФ) кинетическим методом (АМР)

Торговая форма

Кат № 1.076.0.10	R1 Буферный раствор R2 Субстратный реагент	2 фл * 100 мл 2 фл * 0,6 г

Введение

Щелочная фосфатаза – это фермент, который находится практических во всех тканях человека, но больше всего его вырабатывается в печени, костях, кишечнике, эндометрии (плаценте) и легких.

Информативны как повышение, так и понижение активности щелочной фосфатазы. Активность фермента увеличивается при заболеваниях костей (саркома, миеломная болезнь, болезнь Педжета), «почечном рахите», заболеваниях печени (гепатиты, инфекционный мононуклеоз, цирроз, ЦМВ у детей), язвенном колите, инфаркте легкого и почки и др. Снижение активности щелочной фосфатазы наблюдается при цинге, выраженной анемии, кретинизме, гипотиреодизме.

Принцип метода

Кинетический метод определения каталитической активности ЩФ основан на ферментативной реакции:

$$n\text{-нитрофенилфосфат} + АМР \xrightarrow{ЩФ} n\text{-нитрофенол} + АМР\text{-фосфат}$$

Скорость увеличения оптической плотности прямо пропорциональна активности ЩФ и измеряется фотометрическим методом при 405 нм.

Аналитические характеристики:

Чувствительность: не более 25 Е/л

Линейность: до 750 Е/л

Коэффициент вариации: не более 7%.

Образцы и их стабильность

Сыворотка, гепаринизированная плазма крови. *Избегать гемолиза!!*

Падение активности ЩФ при хранении в течение 7 дней составляет: 0% при 2-4°С и 10 при 18-25°С.

Подготовка реагентов для анализа и их стабильность

Приготовление рабочего реагента для схемы 1

Для приготовления рабочего реагента содержимое флакона 2 растворяют во флаконе 1, аккуратно перемешивая и не допуская вспенивания.

Рабочий реагент стабилен 3 недели при температуре 2-8°С или 5 дней при 15-25°С. *Рабочий реагент не замораживать, предохранять от прямого солнечного света, плотно закрывать флакон сразу после использования.*

Проведение анализа

Длина волны: 405 нм, температура измерений 37°С, кювета 1 см.

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

Схема 1. *Запуск реакции*

Раствор	Опытная проба, мл
Рабочий реагент	1,0
Прогревать до температуры определения	
Образец	0,02
Пробы тщательно перемешать. Инкубируют 1 мин при температуре 37°С. Измерить оптическую плотность раствора (A_1) по отношению к воздуху или дистилл. воде. Точно через 1, 2, 3 мин повторить изменения (A_2, A_3, A_4).	

Рассчитать среднее изменение оптической плотности за 1 мин (ΔА/мин).

Расчет

Каталитическую активность ЩФ (в Е/л) в исследуемой пробе определяют по формуле:

$$\text{Е/л} = \Delta A/\text{мин} * F$$

F -- фактор F рассчитывается теоретически. Точное значение фактора подбирается экспериментально, измерением материалов с известными значениями аналита или методом параллельных проб.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Параметры для автоматических биохимических анализаторов серии Mindray BS-120/200/300/330/400

Настройки для анализатора	
Тест	ALP
№	*
Полное название	Щелочная фосфатаза
№ стандарта	*
Тип реакции	Кинетика
Измерения против	Воздуха или дистилл. воды
Первичная длина волны	405 нм
Направление	Восходящая
Время реакции	60 с
Время инкубации	60 с
Температура измерений	37 °С
Единицы	Е/л
Точность	1
Соотношение реагент/проба	60 : 1
Объем R	180 мкл
Объем пробы	3 мкл
R1 холост	0–0
Смеш холост реаг	0–0
Диапазон линейности	до 750 Е/л
Предел линейности	-
Чувствительность	не более 25 Е/л
Коэффициент вариации	не более 7%
Верхний предел абсорбции реагента против воды	1,0 Е
Нижний предел абсорбции реагента против воды	0 Е
Предел субстр	0
Коэффициент	-
КАЛИБРОВКА	
Правило калибровки	Двухточечная линейная
Чувствительность	0
Повторы	2
Интервал	0
SD	-
Холостой ответ	0
Предел ошибки	0
Коэффициент корреляции	-

* значения вводит оператор.

Правило калибровки – линейная, на выбор:

Двухточечная линейная (физраствор/вода +стандарт из набора 1-го уровня)

двухточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня)

многоточечная линейная (физраствор/вода + стандарт из набора 1-го уровня + разведенный 1:1 стандарт из набора в качестве 2-го уровня)

Многоточечная линейная (физраствор/вода + мультикалибратор 1-го уровня +мультикалибратор 2-го уровня)

Нормальные значения

Мужчины до 115 Е/л.

Женщины до 105 Е/л

Примечания

- Использовать только для диагностики in vitro.
- Реагенты содержат азид натрия в качестве консерванта: избегать попадания на кожу и слизистые!
- Пробы, содержащие ЩФ с активностью выше 700 Е/л, разводят 0,9% NaCl в соотношении 1:5, полученный результат умножают на 6.

Перерасчет единиц

1 Е/л = 1 мкмоль/(мин*л)

1 кат/л=1 моль(сек*л)

1 мккат/л=60Е/л

Условия хранения и эксплуатации набора

Набор должен храниться при температуре 2-8° С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности (12 месяцев). Рабочий реагент стабилен 3 недели при температуре 2-8°С или 5 дней при 15-25°С. Рабочий реагент не замораживать, предохранять от прямого солнечного света, плотно закрывать флакон сразу после использования.