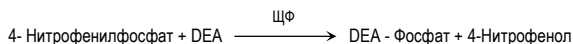


КОД 11590 50 мл	КОД 11591 200 мл	КОД 11597 500 мл
Хранить при 2-8°C		
Реагенты для измерения концентрации ЩФ. Использовать только для работы «in vitro» в клинических лабораториях		



ПРИНЦИП МЕТОДА

Щелочная фосфатаза (ALP) катализирует в щелочной среде перенос фосфатной группы от 4-нитрофенилфосфата к диэтаноламину (DEA), освобождая 4-нитрофенол. Активность фермента определяется по скорости образования 4-нитрофенола, оптическая плотность которого измеряется при 405 нм^{1,2}.



НАБОРЫ

	КОД 11590	КОД 11591	КОД 11597
A. Реагент	1 x 40 мл	1 x 160 мл	4 x 100 мл
B. Реагент	1 x 10 мл	1 x 40 мл	2 x 50 мл

СОСТАВ

A. Реагент: Диэтаноламин 1.2 моль/л, хлорид магния 0.6 ммоль/л, pH 9.8.

Вредный (Xn): R22. Не глотать. S28.1: После контакта с кожей немедленно промыть водой. S45: при несчастном случае и плохом самочувствии, немедленно обратитесь за медицинской помощью.

B. Реагент: 4-Нитрофенилфосфат 60 ммоль/л.

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка выше 1.200 при 405 нм (1 см кювета).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Рабочий реагент:

- Код 11590 и 11591: Перенесите содержимое Реагента В во флакон С Реагентом А. Тщательно перемешать. Другие объемы рабочего реагента могут быть приготовлены по пропорции 4 мл Реагента А + 1 мл Реагента В. Стабильно в течение 2 месяцев при 2-8°C.
- Код 11597: Перенесите 25 мл из флакона с Реагентом В во флакон с Реагентом А. Тщательно перемешать. Другие объемы рабочего реагента могут быть приготовлены по пропорции 4 мл Реагента А + 1 мл Реагента В. Стабильно в течение 2 месяцев при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурным режимом 37°C и с фильтром 405 нм.

– Кювета с длиной оптического пути 1 см.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка и плазма, полученные с помощью стандартных процедур.

Щелочная фосфатаза в сыворотке или плазме стабильна в течение 7 дней при 2-8°C.

Гепарин может быть использован в качестве антикоагулянта.

ПРОЦЕДУРА

1. Довести Рабочий Реагент и оборудование до температуры реакции.
2. Внести в кювету (примечание 1):

Рабочий Реагент	1.0 мл
Образец	20 мкл

3. Перемешать и поместить кювету в измерительную ячейку фотометра.
4. Измерить начальную абсорбцию, повторить измерение в течение 3 минут с интервалом в 1 минуту.
5. Рассчитать разницу показателей последовательных измерений абсорбций, вычислить среднюю разницу абсорбций за минуту ($\Delta A/\text{мин}$).

РАСЧЕТ

Концентрация ЩФ в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A/\text{мин} \times \frac{V \times 10^6}{E \times V_s} = \text{Ед/л}$$

Козфициент молярной абсорбции (ϵ) 4-нитрофенола при 405 нм составляет 18450, оптический путь (l) составляет 1 см, общий реакционный объем (Vt) равен 1.02, объем образца (Vs) равен 0.02, и 1 Ед/л равен 0.0166 мккат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

$\Delta A/\text{мин}$	$\times 2764 = \text{Ед/л}$
	$\times 46.08 = \text{мкКат/л}$

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Температура Реакции	мужчины ³	женщины ³
25°C, до	180 Ед/л = 3.00 мкКат/л	160 Ед/л = 2.67 мкКат/л
30°C, до	220 Ед/л = 3.67 мкКат/л	195 Ед/л = 3.25 мкКат/л
37°C, до	270 Ед/л = 4.50 мкКат/л	240 Ед/л = 4.00 мкКат/л

Концентрации у растущих детей выше и широко варьируются. Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

– Предел обнаружения: 1.6 Ед/л = 0.027 мккат/л.

– Предел линейности: 900 Ед/л = 15.0 мккат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

– Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
117 Ед/л = 1.95 мккат/л	1.1%	20
431 Ед/л = 7.18 мккат/л	0.7%	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
117 Ед/л = 1.95 мккат/л	4.5%	25
431 Ед/л = 7.18 мккат/л	2.2%	25

– Чувствительность: 0.362 $\Delta \text{mA} \cdot \text{л/Ед} \cdot \text{мин} = 0.022 \Delta \text{mA} \cdot \text{л/мккат} \cdot \text{мин}$.

– Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

– Интерференция: Липемические образцы (триглицериды < 10 г/л) и билирубин (< 20 мг/дл) не влияют на результаты. Гемоглобин (> 5 г/л) может влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут влиять на исследование⁴.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз органических фосфатных моноэфиров в щелочной среде. Фермент присутствует практически во всех тканях организма, особенно в клеточных мембранах, и встречается в особенно высоких концентрациях в плаценте, эпителии кишечника, почечных канальцах, остеобластах и печени.

Форма, присутствующая в сыворотке нормального взрослого человека возникает главным образом в печени и костной ткани.

Повышение сывороточной ЩФ найдено у пациентов с заболеваниями костей, связанными с повышенной активностью остеобластов (болезнь Педжета, первичный и вторичный гиперпаратирозидизм, метастазах в кости, рахитиз, остеопороз, переломах), а также у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы (обтурационной желтухой, гепатитами, гепатотоксичностью, вызванной различными лекарствами, раком печени). Физиологические изменения, такие как костный рост и беременность, могут вызвать повышение уровней ЩФ^{5,6}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Recommended methods for determination of four enzymes in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1974; 33:291-306.
2. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standardisierung von methoden zur bestimmung von enzymaktivitäten in biologischen flüssigkeiten. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1970; 8:658-660.
3. Rosalki SB, Foo AY, Burlina A, et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin Chem* 1993; 39:648-652.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.