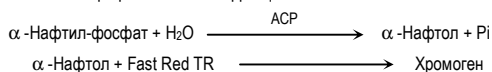


Код 11548 40 мл
Хранить при 2-8°C
Реагенты для измерения активности кислой фосфатазы. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории



ПРИНЦИП МЕТОДА

Кислая фосфатаза (АСР) катализирует в кислой среде гидролиз фосфатной группы от α -нафтилфосфата с образованием α -нафтола, который образует в реакции с солью диазония (Fast Red PR) хромоген. Активность фермента определяется по скорости образования хромогена, оптическая плотность которого измеряется при 405 нм¹. Пентандиол ускоряет реакцию, действуя как акцептор фосфата. Тартрат используется как специфический ингибитор простатической фракции^{1,2}.



СОСТАВ

АТ. Реагент. 1 x 45 мл. Цитрат натрия 110 ммоль/л, 1,5-пентандиол 220 ммоль/л, pH 5.2

АI. Реагент. 1 x 22.5 мл. Цитрат натрия 110 ммоль/л, 1,5-пентандиол 220 ммоль/л, тартрат натрия 110 ммоль/л, pH 5.2

В1. Реагент. 4 для 10 мл. α -Нафтилфосфат 12.5 ммоль/л, после растворения.

В2. Реагент. 4 для 10 мл. Соль диазония (Fast Red PR) 1.25 ммоль/л, после растворения.

С. Реагент. 1 x 5 мл. Уксусная кислота 0.6 моль/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 0.450 при 405 нм (1 см кювета).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Рабочий реактив: К реактиву В1 добавить 10 мл реактива АТ (общая кислая фосфатаза) или реактива АI (непростатическая кислая фосфатаза) и перемешать до полного растворения. Далее перелить данный раствор во флакон реактива В2 и перемешать до полного растворения. Стабильность 10 дней при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурным режимом 30 или 37°C и с фильтром 405 нм

– Кювета с длиной оптического пути - 1 см

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка, полученная с помощью стандартных процедур. Кислая фосфатаза нестабильна в сыворотке. Измерять немедленно или добавить 1 каплю Реагента С на 1 мл сыворотки. Кислая фосфатаза в подкисленной сыворотке стабильна в течение 6 дней при 2-8°C

ПРОЦЕДУРА

1. Довести рабочий реагент и фотометр до температуры реакции.

2. Налить в кювету: (примечание 1)

Реагент	1.0 мл
Образец	0.1 мл

3. Перемешать и поставить кювету в измерительную ячейку фотометра. Начать отсчет времени.

4. Через 5 минут измерить абсорбцию и затем повторить измерение в течение 3 минут с интервалом в 1 минуту

5. Рассчитать разницу между последовательными измерениями абсорбции и высчитать среднюю разницу абсорбций за минуту - $\Delta A/\text{мин}$.

РАСЧЕТ

Концентрация кислой фосфатазы в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A/\text{мин} \times \frac{V \times 106}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{Ед/л}$$

Коэффициент молярной абсорбции (ϵ) хромогена при 405 нм составляет 13033, оптический путь (l) составляет 1 см, общий реакционный объем (V) равен 1.1, объем образца (V_s) равен 0.1, и 1Ед/л равен 16.67 нкат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

$\Delta A/\text{мин}$	$\times 844 = \text{Ед/л}$ $\times 14061 = \text{нКат/л}$
-----------------------	--

Простатическая кислая фосфатаза = Общая Кислая фосфатаза – Непростатическая Кислая Фосфатаза

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Температура реакции	37°C	30°C ²
Общая, до	10 Ед/л = 167 нКат/л	7 Ед/л = 117 нКат/л
Простатическая, до	3.5 Ед/л = 58 нКат/л	2.6 Ед/л = 43 нКат/л

Величины для 37°C получены с помощью величин для 30°C с использованием фактора перевода. 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: 0.8 Ед/л=13 нкат/л.

– Предел линейности: 150 Ед/л = 2500 нкат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

– Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
37 Ед/л = 617 мккат	2.1 %	20
93 Ед/л = 1550 мккат/л	1.1 %	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
37 Ед/л = 617 мккат/л	2.6 %	25
93 Ед/л = 1550 мккат/л	1.9 %	25

– Чувствительность: 1.185 $\Delta \text{mA} \cdot \text{л/Ед} \cdot \text{мин} = 0.071 \Delta \text{mA} \cdot \text{л/нкат} \cdot \text{мин}$.

– 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: Липемия (триглицериды < 5 г/л) не влияет на результаты. Гемолиз и билирубин могут влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут исказить результат³.

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

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Кислая фосфатаза катализирует гидролиз органических фосфатных моноэфиров в кислой среде. Главные тканевые источники кислой фосфатазы – простата, селезенка, печень, почки и яичечные элементы.

Определение концентрации кислой фосфатазы в сыворотке почти всегда направлено на простатический фермент с последующей целью выявления и мониторинга патологий простаты (гипертрофия, простатит, карцинома)^{4,5}.

Увеличение концентрации общей кислой фосфатазы в сыворотке также может быть обусловлено другими причинами: гематологическими заболеваниями (идиопатическая тромбоцитопения, миелодисплазия, метастатическим раком груди, заболеваниями костей (болезнь Педжета, метастатическая карцинома костей), различными заболеваниями печени (гепатиты, обтурационная желтуха), острыми почечными нарушениями, болезнью Гоше и Ниманна-Пика^{4,5}.

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. Escrignano J. Kinetic analysis of chemical reactions coupled to an enzymic step. Application to acid phosphatase assay with Fast Red. *Biochem. J* 1984; 223: 633-638.
2. Maire I. Comité scientifique. Commission enzymologie. Recommendations pour la mesure de la concentration catalytique des phosphatases acides dans le sérum humain à 30 °C. *ISB* 1991; 17: 327-340.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.