



## Інструкція з використання набору реагентів для визначення активності лужної фосфатази в сироватці за допомогою фенілфосфату Лужна фосфатаза з ФФ СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

### Принцип методу

Лужна фосфатаза розщеплює фенілфосфат з утворенням фенолу. Окислювальне сполучення фенолу з 4-амінофеназоном утворює червоний барвник, інтенсивність забарвлення котрого визначається фотометрично. Активність ферменту є пропорційною прирощенню оптичної щільності розчину.

### Клінічне значення

Лужна фосфатаза - фермент, який присутній майже у всіх тканинах організму, особливо високий вміст в кістках, печінці, плаценті, кишечнику та нирках. Як збільшення, так і зменшення ЛФ має велике клінічне значення.

Збільшення активності ЛФ головним чином зустрічається при захворюваннях кісток (хворобі Педжета, остеомалаяції, рахіті) або захворюваннях печінки (холестаза, обструктивне захворювання печінки, гепатит, саркоїдоз, гепатотоксичні випадки, механічний жовтілиця), метастазування в кістки та печінку, Причини зниження ЛФ плазми: кретинізм та дефіцит вітаміну С, гіпотиріоз, остеопороз.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

### Склад набору

1. **Реагент 1.** Буфер, концентрат: карбонат натрію, бікарбонат натрію, 4-амінофеназон.
2. **Реагент 2.** Субстрат: динатрійфенілфосфат.
3. **Реагент 3.** Окислювач: періодат натрію.
4. **Стандарт.** Водний розчин фенолу.
5. Інструкція з використання
6. Сертифікат якості.

### Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 100-10000 nmol/(s\*1) (нмоль / (сек\*л)). Відхилення від лінійності не перевищує 7%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки NaCl 9 g/l (г/л) та помножте результат на коефіцієнт розведення.
2. Чутливість не менш 100 nmol/(s\*1) (нмоль / (сек\*л)).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 7%.

### Матеріал для дослідження

Сироватка крові. Досліджувані сироватки повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків.

### Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 540 (490-550) nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Водяна баня.
- Загальне лабораторне обладнання.

**Прим:** Адаптації до напівавтоматичних і автоматичних приладів надаються за запитом.

### Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

1. **Буферний розчин.** Вміст флакону з **P1** розвести в мірній колбі вмістом 500 ml (мл), довести до мітки дистильованою водою. Розчин стійкий при зберіганні 2-8 °С протягом 1 mth (міс).
2. **Субстратно-буферний розчин.** Готують змішуванням Буферного розчину та **P2**.

Для рідкого субстрату: змішати у співвідношенні 49:1

Для сухого субстрату: на аналітичних вагах зважити навіску 64 мг (mg) субстрату з флакону і розчинити в 50 ml (мл) Буферного розчину.

Субстратно-буферний розчин готують перед застосуванням.

**3. Окислювач.** Вміст флакону з **Р3** розчинити в мірній колбі вмістом 500 ml (мл), довести дистильованою водою до мітки. Розчин стійкий при зберіганні 2-8 °С.

**4. Стандарт.** Із флакону відібрати 2,5 ml (мл) розчину фенолу, перенести в мірну колбу вмістом 50 ml (мл), довести дистильованою водою до мітки. Розчин стійкий при зберіганні 2-8°C протягом 1 wk (тижд).

Можна змішувати кратні обсяги реагентів, не змінюючи їх співвідношення.

## Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 540 (490-550) nm (нм)

кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)

температура 37 °С

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці:

	Холостий стандартний зразок	Стандартний зразок	Холостий дослідний зразок	Дослідний зразок
СБР, ml (мл)	3.0	3.0	3.0	3.0
Інкубувати 3 min (хв) при температурі 37°C				
Дист. вода, ml (мл)	0.1	-	-	-
Стандарт, ml (мл)	-	0.1	-	-
Зразок, ml (мл)	-	-	-	0.1
Інкубувати 10 min (хв) при температурі 37°C				
Окислювач, ml (мл)	3.0	3.0	3.0	3.0
Зразок, ml (мл)	-	-	0.1	-

**Прим.** Об'єми реагенту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

4. Витримати 5 min (хв) при кімнатній температурі.

5. Виміряти оптичні щільності стандартного зразка проти холостого стандартного зразка, дослідного зразка проти холостого дослідного зразка. Забарвлення стабільне протягом 30 min (хв).

## Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}} - E_{\text{хол досл}}}{E_{\text{ст}} - E_{\text{хол ст}}} \times 8300$$

де:  $C_{\text{дос}}$  - активність лужної фосфатази в дослідному зразку, pmol/(s\*1) (нмоль/(сек\*л)).

$E_{\text{хол досл}}$  - оптична щільність холостого дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{дос}}$  - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{хол ст}}$  - оптична щільність холостого стандартного зразку, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$  - оптична щільність стандартного зразку, одиниць оптичної щільності.

8300 – фактор перерахунку, pmol/(s\*1) (нмоль/(сек\*л)).

## Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Чоловіки 900-2290 pmol/(s\*1) (нмоль/(сек\*л)).

Жінки 740-2100 pmol/(s\*1) (нмоль/(сек\*л))

Діти 1200-6300 nmol/(s\*1) (нмоль / (сек\*л))

## Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи «Спл Контроль Норма», «Спл Контроль Патологія» (ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна) або контрольний матеріал іншого виробника. Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону, перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми.

Калібрування приладу проводиться перед використанням нової серії реагентів або у відповідності з вимогами до контролю якості лабораторії. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

## Примітки

Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.

## Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8 °С. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

## Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

## Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25 °С. Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37 °С не більше 72 h (год).

## Ознаки погіршення реагентів


Бланк поглинання (A) при 505 nm (нм) <0.4.

## Гарантії виробника









1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам Технічного регламенту щодо медичних виробів для діагностики in vitro № 754 від 02.10.2013р. при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

## Комплектація

	<b>REF</b> 1.040
Вміст	165 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)
P2	1 x 10 ml (мл)
P3	1 x 50 ml (мл)
Стандарт	1 x 5 ml (мл)

 ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14.  
Тел./факс: (057) 752-32-31, [www.granum.ua](http://www.granum.ua)

## Символи на продукції

 Виробник	<b>Виготовлено:</b> Дата виробництва	<b>Придатно до:</b> Термін придатності	<b>Серія:</b> Номер серії
 <b>IVD</b>	Виріб медичний для діагностики in vitro		Консультуйтеся з інструкцією із використання
	Берегти від сонячного світла		Знак відповідності Технічним регламентам
	Температурне обмеження		Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів
			Каталожний номер