



Інструкція

з використання набору реагентів
для визначення активності лужної фосфатази
в сироватці або плазмі крові

Лужна фосфатаза-кін. СпЛ

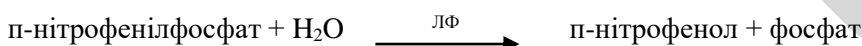
IN VITRO

Зберігати при 2-8 °С

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Лужна фосфатаза (ЛФ) каталізує гідроліз п-нітрофенілфосфату при рН 10.4, звільнення п-нітрофенола та фосфату, відповідно до наступної реакції:



Швидкість утворення п-нітрофенола, пропорційна каталітичній активності лужної фосфатази що міститься у пробі і вимірюється на фотометрі.

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 зменшення ЛФ має велике клінічне значення.

Збільшення активності ЛФ головним чином зустрічається при захворюваннях кісток (хворобі Педжета, остеомаляції, рахіті) або захворюваннях печінки (холестаза, обструктивне захворювання печінки, гепатит, саркоїдоз, гепатотоксичні випадки, механічній жовтілиці), 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: діетаноламін рН 10.4 - 1 mmol/l (ммоль/л); магнію хлорид - 0.5 mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** Субстрат: п-нітрофенілфосфат - 10 mmol/l (ммоль/л).
3. Інструкція з використання.
4. Сертифікат якості.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 20 - 1200 U/l (Од/л). Відхилення від лінійності не перевищує 5 %. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:9 (в 10 разів) NaCl 9 g/l (г/л) та помножьте результат на 10.
2. Чутливість не менш 20 U/l (Од/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Використовувати гепарин в якості антикоагулянту. Оксалати, цитрати, фториди та ЕДТА пригнічують лужну фосфатазу. Досліджувані сироватки або плазми 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.

Стабільність зразків 3 d (доб) при 2-8 °С.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 405 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- 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).
Приготування робочого реагенту **РР**: змішати 4 об'єми **Р1** (буфер) та 1 об'єм **Р2** (субстрат).
РР стабільний 1 mth (міс) при 2-8 °C або 10 d (доб) при 15-25 °C.

Проведення аналізу

- Умови вимірювання:
 - довжина хвилі 405 nm (нм)
 - кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)
 - температура 25 °C / 30 °C / 37 °C
- Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.
- Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити вв об'ємах, вказаних в таблиці.

РР, ml (мл)	1.2
Зразок, µl (мкл)	20

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

- Перемішати, інкубувати протягом 1 min (хв).
- Виміряти первинну оптичну щільність (E) дослідного зразка. Включити секундомір і виміряти E з інтервалом в 1 min (хв) протягом 3-х min (хв).
- Підрахуйте різницю між E та середнє значення зміни E за хвилину, $\Delta E / \text{min}$ (хв).

Розрахунок результатів

Сироватка (плазма)

$$A = \Delta E / \text{min (хв)} \times 3300$$

де: A - активність ЛФ в дослідному зразку, U/l (Од/л).

ΔE - зміна оптичної щільності дослідного зразка за хвилину, одиниць оптичної щільності.

3300 – теоретичний чинник перерахунку для вираження активності ЛФ в U/l (Од/л).

Для корекції результатів при інших температурах потрібно множити на:

Температура при вимірюваннях	Чинник переходу		
	25 °C	30 °C	37 °C
25 °C	1.00	1.22	1.64
30 °C	0.82	1.00	1.33
37 °C	0.61	0.75	1.00

Референтні величини

Ґрунтуючись 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.

	25 °C	30 °C	37 °C
Дорослі	60-170 U/l (Од/л)	73-207 U/l (Од/л)	98-279 U/l (Од/л)
Діти (1-14 років)	< 400 U/l (Од/л)	< 480 U/l (Од/л)	< 645 U/l (Од/л)

Фактори, що впливають на активність ЛФ у людей:

- фізичні навантаження
- період активного росту у дітей
- вагітність.

Відтворюваність

Значення, U/l (Од/л)	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
	174	443	175	434
SD	0,72	1,56	6,88	11,93
CV, %	0,41	0,35	3,93	2,75

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів виробництва ТОВ «ЛАБОРАТОРІЯ ГРАНУМ», при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,99938

Рівняння регресії: $y=1,025x - 1,105$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Такі антикоагулянти, як флуорид, оксалат, ЄДТА та цитрат пригнічують активність. Гемоліз впливає на високі концентрації лужної фосфатази в еритроцитах.

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

1. 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


- Присутність часток або помутніння.
- ОЩ холостого зразка при 405 nm (нм) ≥ 1.30 .

Гарантії виробника

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












Комплектація

	REF 1.038	REF 1.032	REF 1.033	REF 1.034
Вміст	40 визн.	80 визн.	250 визн.	415 визн.
P1	1 x 40 ml (мл)	1 x 80 ml (мл)	1 x 240 ml	1 x 400 ml
P2	1 x 10 ml (мл)	1 x 20 ml (мл)	1 x 60 ml (мл)	1 x 100 ml

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

granumlab.com.ua

Символи на продукції

 Виробник	 Виготовлено: Дата виробництва	 Придатно до: Термін придатності	 Серія: Номер серії	
 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			