



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

от _____ 20 г. № _____



ООО «Хоспитекс Диагностикс»

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для определения активности кислой фосфатазы

ПРИНЦИП МЕТОДА

Кислая фосфатаза (КФ) катализирует реакцию гидролиза нафтилфосфата, который превращается в присутствии FRTR в азокраситель, имеющий желтую окраску. Увеличение поглощения при 405 нм пропорционально активности кислой фосфатазы в образце. Простатическая кислая фосфатаза может быть ингибирована добавлением тартрата и определена путем расчета разницы активностей, между общей активностью и непростатической кислой фосфатазой.

СОСТАВ НАБОРА

Реагент R1: буфер (2х35 мл)
Цитратный буфер, pH 5,4.....100 ммоль/л
Реагент R2: субстрат (20 флаконов)
FAST RED TR (FRTR)
(4-хлор-2-метилфенил диазониева соль).....3 ммоль/л
А-нафтилфосфат.....1,2 ммоль/л
Реагент R3: ингибитор (2 флакона)
Тартрат натрия
Реагент R4: Стабилизатор (1х2 мл)
Стабилизированный раствор уксусной кислоты

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор обеспечивает линейную область определения активности кислой фосфатазы в диапазоне от 1 до 40 Ед/л, отклонение от линейности не превышает 5%. Чувствительность не более 5 Ед/л, коэффициент вариации результатов определения – не более 5%.
Качество набора можно оценивать по отечественным или зарубежным контрольным сывороткам, аттестованным данным методом.
Нормальные величины общей активности кислой фосфатазы в сыворотке крови человека составляют у мужчин – до 4,8 Ед/л, у женщин до 3,7 Ед/л.
Нормальные величины активности простатической кислой фосфатазы в сыворотке крови человека составляют 1,5 Ед/л.
Рекомендуется в каждой лаборатории установить свой диапазон нормальных величин.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови без гемолиза. Сыворотка должна быть стабилизирована как можно скорее после получения. К 1 мл сыворотки добавить 20 мкл стабилизатора R4. Контрольная сыворотка готовится таким же образом.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Реагенты содержат 4-хлорф-2-метилфенил диазониевую соль, α-нафтилфосфат. Не допускать попадания на кожу и слизистые. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами. Не пипетировать ртом; при проглатывании следует выпить 0,5 л теплой воды и вызвать рвоту.

При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. образцы крови человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирус гепатита или любой другой возбудитель вирусной инфекции.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- спектрофотометр или фотозлектроколориметр, длина волны 405 нм (400 – 420 нм), кювета с длиной оптического пути 1 см;
- секундомер;
- пипетки, позволяющие отбирать объемы 100, 500 и 1000 мкл;
- вода дистиллированная;
- 0,9% раствор NaCl (физиологический раствор).

ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- 1. ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОБЩЕЙ АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ**
Добавить 3 мл буфера (R1) в субстрат (R2) и медленно перемешать.
- II. ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕПРОСТАТИЧЕСКОЙ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ**



HOSPITEX DIAGNOSTICS

лабораторное оборудование и реагенты

Добавить 3 мл дистиллированной воды во флакон с ингибитором (R3) и медленно перемешать. Добавить 30 мкл R3 в каждые 3 мл рабочего реагента для определения общей активности.

Рабочий реагент: 1500 мкл

Пробирки с рабочим реагентом необходимо предварительно прогреть в течение 5 минут при 37 °С.

Проба 100 мкл

Смешайте и инкубируйте в течение 5 минут при 37 °С, затем измерьте оптическую плотность 3 раза с интервалом в 1 минуту. Рассчитайте изменение оптической плотности за 1 минуту ($\Delta ОП/мин$)

Примечание: При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов в зависимости от объема используемой кюветы может быть пропорционально изменено (соотношение образца к рабочему реагенту составляет 1:15).

Активность лактатдегидрогеназы определить по формуле:

$$A = \Delta ОП / мин \times 1250, \text{ где}$$

A – активность гамма-глутамилтрансферазы, Ед/л;

$\Delta ОП/мин$ – изменение оптической плотности пробы за одну минуту, ед. опт. пл.;

1280 – фактор пересчета для выражения активности гамма-глутамилтрансферазы в Ед/л (указывается в паспорте на набор)

Примечание: 1 Ед/л $\times 0,0167 = \text{мкКат/л}$

Простатическая КФ = Общая КФ – Непростатическая КФ

Хранение наборов должно производиться в темном месте при температуре + 2 – 8 °С в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

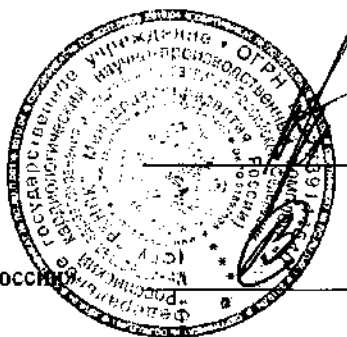
Реагенты после вскрытия флаконов могут храниться при температуре +2 – 8 °С в темном месте в течение всего срока годности при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент необходимо хранить при температуре +2 – 8 °С в течение 60 дней в защищенном от света месте.

Если $\Delta ОП/мин$ больше или равно 0,032, разведите образец 1+1 физиологическим раствором для повторного разведения, а результат умножьте на 2.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдать инструкцию по применению набора.

По всем вопросам, касающимся набора, следует обращаться в ООО «Хоспитекс Диагностика» по адресу: 121552, г. Москва, а/я 43, тел/факс (495) 646-0505



Начальник производства

А.А. Борисова

Главный врач ФГУ «РКНПК Минздравсоцразвития России»

В.К.Ситина

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

РАСЧЕТ

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА