

ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДиаВетТест



Набор ветеринарных диагностических реагентов для определения концентрации щелочной фосфатазы в крови животных.

Щелочная фосфатаза - фермент, катализирующий щелочной гидролиз разнообразных веществ, в ходе которого происходит отщепление остатка фосфорной кислоты от ее органических соединений. Очень широко распространена в тканях животных и человека, главным образом, в печени (в желчных канальцах и эпителии желчных протоков), канальцах почек, тонком кишечнике, костях и плаценте. Общая активность щелочной фосфатазы в циркулирующей крови здоровых животных складывается из активности печеночных и костных изоферментов, которая наиболее велика у растущих животных, в то время как у взрослых, может увеличиваться при опухолях костей. Наиболее часто увеличение общей концентрации щелочной фосфатазы в крови связано с нарушениями тока желчи - холестатическое гепатобилиарное заболевание. Повышение фермента во время беременности происходит за счет плацентарного изофермента.

Показания к исследованию

- Заболевания печени различной этиологии;
- Заболевания костей, связанных с увеличением количества остеобластов (опухоли костей, остеомалация и др.).

Информация для заказа

Кат. №	Состав, мл		Объем, мл
	Реагент 1	Реагент 2	
DV 794 001	2x68	2x17	170
DV 794 002	6x68	6x17	510

Метод

Кинетический фотометрический тест. Щелочная фосфатаза катализирует реакцию гидролиза п-нитрофенилфосфата с образованием эквимольного количества п-нитрофенола и фосфата. Скорость образования п-нитрофенола прямо пропорциональна активности щелочной фосфатазы и измеряется фотометрически при длине волны 405 нм.

Аналитические характеристики

- Линейность в диапазоне от 40 до 700 Е/л.
- Отклонение от линейности не превышает 5%.
- Чувствительность – не более 30 Е/л.
- Коэффициент вариации – не более 5%.

При активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме крови более 700 Е/л (изменение оптической плотности пробы в минуту $\Delta A/\text{мин}$ не должно превышать 0,25) анализируемую пробу следует развести физиологическим раствором в 5 раз, повторить анализ и полученный результат умножить на 5.

Контроль качества

При работе на биохимических анализаторах рекомендуется использовать мультикалибратор TruCal U фирмы [DiaSys](#). Для внутреннего контроля качества с каждой серией образцов проводите измерения контрольных сывороток TruLab N и P (метод DGKC opt. 1970 37°C), DiaSys, Германия.

Подготовка животного к исследованию

У моногастричных животных кровь берут до кормления в утренние часы, у жвачных – утром, через 4 часа после кормления. Можно пить воду. Встряхивание крови в процессе взятия, при хранении, транспортировке может вызвать гемолиз и привести к занижению показателя.

Исследуемые образцы

Негемолизованный сыворотка или плазма крови. Сыворотку или плазму крови следует отделить от форменных элементов крови не позднее, чем через 1 час после забора крови.

Меры предосторожности

1. В реагентах 1 и 2 содержится токсичный компонент – азид натрия. При работе с ними следует соблюдать осторожность и не допускать попадания на кожу и слизистые.
2. Обычные меры предосторожности, принимаемые при работе с лабораторными реактивами.

Подготовка к анализу

Монореагентная схема — запуск реакции образцом.

Приготовление **рабочего реагента**: смешать 4 объема **реагента 1** и один объем **реагента 2**. Тщательно закрыть флаконы с **реагентами 1 и 2** непосредственно после каждого использования. **Рабочий реагент** можно хранить при температуре 2-8°C не более месяца или при комнатной температуре (15-25°C) не более 5 суток.

Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.

Реагенты 1 и 2 готовы к использованию.

Проведение анализа

Перед проведением анализа рабочий реагент следует нагреть до температуры $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 5 мин. Компоненты реакционной смеси отбирать в количествах, указанных в таблице:

<i>Монореагентная схема – запуск реакции образцом.</i>				<i>Биреагентная схема — запуск реакции субстратом.</i>			
<i>Отмерить, мкл</i>	<i>Контрольная (холостая) проба</i>	<i>Калибровочная проба</i>	<i>Опытная проба</i>	<i>Отмерить, мкл</i>	<i>Контрольная (холостая) проба</i>	<i>Калибровочная проба</i>	<i>Опытная проба</i>
Образец/ Мультикалибратор	-	20	20	Образец/ Мультикалибратор	-	20	20
Рабочий реагент	-	1000	1000	Реагент 1	-	1000	1000
Пробу перемешать и инкубировать в кювете с длиной оптического пути 10 мм при температуре 37°C в течение 1 мин. Измерить оптическую плотность пробы (A_1) при температуре 37°C при длине волны 405 нм против воздуха, включить секундомер и через 1 минуту (точно!) аналогично измерить оптическую плотность пробы (A_2). Рассчитать изменение оптической плотности пробы в минуту: $\Delta A/\text{мин} = A_1 - A_2$.				Перемешать, инкубировать 1 мин, затем добавить:			
				Реагент 2	-	250	250
				Перемешать. Через 1 мин измерить оптическую плотность (A_1) и включить секундомер. Измерить оптическую плотность (A_2) через 1, 2 и 3 мин при длине волны 405 нм, при 37°C , относительно холостой пробы, в кюветах с длиной оптического пути 1 см.			

Примечание. При использовании автоматических или полуавтоматических биохимических анализаторов количество реагентов и анализируемых образцов может быть пропорционально изменено в зависимости от объема используемой кюветы (соотношение сыворотки или плазмы крови к рабочему реагенту составляет 1:50).

Адаптации для Вашего анализатора запрашивайте дополнительно.

Расчёты: По фактору

Из значений оптической плотности вычислить $\Delta A/\text{мин}$ и умножить на соответствующий фактор из нижеследующей таблицы:

$\Delta A/\text{мин} \times \text{фактор} = \text{активность ЩФ [Е/л]}$.

Запуск субстратом (405 нм) 3433

Запуск образцом (405 нм) 2757

По мультикалибратору

$$\text{Активность ЩФ [Е/л]} = \frac{\Delta A / \text{мин}_{\text{образца}}}{\Delta A / \text{мин}_{\text{мультикалибратора}}} \times \text{Активность ЩФ в мультикалибраторе [Е/л]}.$$

Интерпретация результатов исследования

Единицы измерения в лаборатории: Ед/л.

Референсные значения: собака – 48,0-75,0 Ед/л; кошка – 49,0-90,0 Ед/л; лошадь – 70,0-250,0 Ед/л;

крупный рогатый скот – 50,0-200,0 Ед/л; свинья – 140,0-200,0 Ед/л.

Повышение уровня щелочной фосфатазы:

- Внутри- и внепеченочный холестаз.
- Заболевания печени (цирроз, некроз, опухоли печени, воздействия инфекционных, токсических и паразитарных факторов).
- Повышение активности остеобластов или распад костной ткани: рост костей у молодых животных, опухоли костей, остеомалация, заживление переломов.
- Увеличение концентрации глюкокортикоидов в крови у собак, синдром Кушинга.
- Гиперпаратиреоз.
- Гипертиреоз.
- Доброкачественная гиперфосфатаземия щенков сибирской лайки.
- Беременность.

Понижение уровня щелочной фосфатазы:

- Гипотиреоз.
- Нарушения роста кости (ахондроплазия, кретинизм, дефицит аскорбиновой кислоты).

Транспортирование, условия хранения и эксплуатации набора

Транспортирование и хранение наборов должно производиться при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Допускается транспортирование и хранение наборов при температуре до 25°C не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

Срок годности набора – 18 месяцев.

Реагенты 1 и 2 после вскрытия флаконов могут храниться при температуре $2-8^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте в течение всего срока годности наборов при условии достаточной герметичности флаконов.

Рабочий реагент можно хранить при температуре $2-8^\circ\text{C}$ не более месяца или при комнатной температуре ($15-25^\circ\text{C}$) не более 5 суток. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Обезвреживание отходов

Утилизацию отходов после проведения исследования следует проводить в соответствии с местными правилами.

Литература

1. Boyd J.W. The interpretation of serum biochemistry test results in domestic animals, in Veterinary Clinical Pathology, Veterinary Practice Publishing Co., Vol. XIII, # II, 1984.
2. Кондрахин И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. – М.: 2004.
3. Медведева М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. – М.: «Аквариум Принт», 2013 – 416 с.
4. Холод В.М. Справочник по ветеринарной биохимии. – В.: 2005.
5. Guder W.G., Zawta B. et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.

6. Д. Мейер, Дж. Харви. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика. Пер. с англ. – М. : Софион. 2007, 456 с.

Изготовитель: АО «ДИАКОН-ДС», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а.

По вопросам, касающимся качества набора (**[ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА ДляВетТест](#)**), следует обращаться в **[ООО «ДИАКОН-ВЕТ»](#)** по адресу: 142290, г. Пущино, Московской обл., ул. Грузовая 1а; тел. (495) 980-63-39; доб. 56-24/55-97.