

Alkaline Phosphatase

Щелочная фосфатаза

МФКХ. Колориметрический. Кинетический
Жидкость

Хранить при температуре 2-8°C.

Комплектация

REF	HBE12
VOL	60 + 15 мл
Реагент 1	1 x 60 мл
Реагент 2	1 x 15 мл
Прибор	Универсальный

Рабочий реагент	1,0 мл
Образец	20 мкл
Смешать и подождать 1 мин. Считать начальную оптическую плотность (abs), запустить секундомер и считывать оптические плотности каждую минуту в течение 3 минут. Вычислить разницу между оптическими плотностями и среднюю оптическую плотность в минуту ($\Delta \text{abs./мин}$).	

Предназначение

Количественное определение щелочной фосфатазы (ALP) в сыворотке человека или гепаринизированной плазме. Только для *in vitro* диагностики. Только для профессионального использования.

Клиническое значение

Распространен почти во всех тканях организма, уровни щелочной фосфатазы в сыворотке крови представляют интерес в диагностике гепатобилиарных расстройств и заболеваний костей. Большая часть ALP в сыворотке нормального взрослого сосредоточена в печени или желчных путях. Нормальные уровни щелочной фосфатазы зависят от возраста и повышены в периоды активного роста костей. Клинический диагноз не должен быть сделан на единичном результате теста, он должен основываться на клинических и других лабораторных данных.

Принцип

Кинетический колориметрический тест, согласно Международной Федерации Клинической Химии и Лабораторной Медицины (IFCC). Щелочная Фосфатаза (ALP) катализирует перенос фосфатной группы от п-нитрофенилфосфата к 2-амино-2-метил-1-пропанолу (АМФ), высвобождая п-нитрофенол в соответствии со следующей реакцией:

ALP

п-Нитрофенилфосфат + АМФ \longrightarrow п-Нитрофенол + Фосфат

Скорость образования п-нитрофенола, измеренная фотометрически, пропорциональна каталитической концентрации щелочной фосфатазы, присутствующей в образце.

Состав Реагента

Реагент 1	2-Амино-2-метил-1-пропанол 0,35 моль/л
Буфер	Цинка сульфат 1 ммоль/л Магния ацетат 2 ммоль/л ЭДТА 2 ммоль/л
Реагент 2	п-нитрофенилфосфат 10 ммоль/л
Субстрат	

Приготовление

Смешать 4 объема Р1 (буфер) с 1 объемом Р2 (субстрат). Стабильность рабочего реагента 21 день при 2-8°C или 5 дней при комнатной температуре (15-25°C).

Хранение, стабильность и утилизация

Все компоненты набора стабильны при температуре 2-8°C до истечения указанного срока годности, при хранении плотно закрытыми, в защищенном от света и загрязнений месте при использовании. Не замораживать реагенты. Реагент должен быть прозрачным раствором. Если замечена мутность или осадок, или, если оптическая плотность бланка при 405 нм > 1,50, реагент должен быть выброшен

Дополнительное необходимое оборудование, не включенное в набор

- Спектрофотометр или колориметр, измеряющий при 405 нм
- Измерительные кюветы 1,0 см оптического пути
- Термостатическая баня при 25°C, 30°C или 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Основное лабораторное оборудование

Образцы

Сыворотка или гепаринизированная плазма. Используйте негепаринизированную сыворотку, освобожденную от сгустка как можно скорее.
Стабильность: 3 дня при 2-8°C.

Процедура

1. Длина волны 405 нм; Температура 25, 30, 37°C; Кювета 1 см оптического пути.
2. Настройте прибор на нуль с дистиллированной водой или воздухом.
3. Капать в кювету:

Вычисление

ALP (Е/л) = $\Delta \text{Abs./мин}$ x 2764

Одна международная единица (МЕ) – это количество фермента, которое трансформирует 1 мкмоль субстрата в минуту, в стандартных условиях. Концентрация выражается в единицах на литр образца (Е/л).

Температурные переводные факторы

Для корректировки результатов к другим температурам умножить на:

Температура исследования	Заданная температура		
	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

Контроль качества

Контрольная сыворотка рекомендована для мониторинга за выполнением процедуры анализа. Если контрольные значения находятся вне определяемого диапазона, проверьте инструмент, реактивы и калибратор для устранения проблемы. Каждая лаборатория должна установить собственную схему Проверки качества и корректирующие действия, если контроли не удовлетворяют приемлемой терпимости. Доступны биохимический Нормальный и Патологический контроль (HBC01, HBC02).

Референсные значения

	25°C	30°C	37°C
Взрослые	17-77 Е/л	21-94 Е/л	26-117 Е/л

Факторы, влияющие на активность ALP в нормальной популяции включают в себя упражнения, периоды роста у детей и беременность. Эти значения приведены для ориентировочных целей. Каждая лаборатория должна установить свой собственный диапазон измерений.

Рабочие характеристики

Диапазон измерений: от 1,307 Е/л (предел обнаружения) до 1400 Е/л (предел линейности). Если полученные значения выше, чем 1400 Е/л, разведите образец 1:10 с физиологическим раствором, повторите определение и умножьте результат на фактор 10.

Точность (повторяемость, воспроизводимость):

	Внутренний анализ (n=20)		Внешний анализ (n=20)	
	Среднее (Е/л)	Станд.отклонение SD	Среднее	Станд.отклонение SD
Среднее (Е/л)	73	194	78	209
Станд.отклонение SD	1,67	3,03	2,13	4,90
Кэфф.вариации CV (%)	2,27	1,58	2,72	2,34

Чувствительность: 1 Е/л = 0,0004 $\Delta \text{Abs./мин}$

Точность: Результаты, полученные при использовании реактивов Cypress Diagnostics не показывали систематической разницы при сравнении с другими коммерческими реактивами.

Мешающие вещества

Фториды, оксалаты, цитраты и ЭДТА ингибируют активность щелочной фосфатазы и не могут использоваться как антикоагулянты. Гемолиз мешает из-за высокой концентрации щелочной фосфатазы в эритроцитах. Список лекарственных средств и других взаимодействующих с щелочной фосфатазой субстанций был сообщен в отчете Young et al.

Примечания

1. Для лучшего использования этого набора на анализаторах Cypress Diagnostics (CYANStart, CYANSmart, CYANExpert 130), мы настоятельно советуем следовать адаптационным приложениям к соответствующему анализатору. Пожалуйста, войдите на наш вебсайт (www.diagnostics.be) как зарегистрированный пользователь для загрузки последнего адаптационного приложения, которое расположено под сектором соответствующего анализатора.

Библиография

1. Wenger C. Et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby CO. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098
2. Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
3. Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press 1995
4. Young DS. Effects of diseases on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001
5. Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999
6. Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory tests, 3rd ed AACC 1995.
7. IFCC Methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J. Clin. Biochem. 1983, 21, 731-784.

11.2019, Rev. 1.0

