

КОД 11592 50 мл	КОД 11593 200 мл	КОД 11598 500 мл
Хранить при 2-8°C		
Реагенты для измерения концентрации ЩФ. Использовать только для работы «in vitro» в клинической лаборатории		

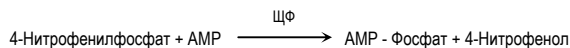
ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) - AMP



ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА (ALP)-AMP 2-АМИНО-2-МЕТИЛ-1-ПРОПАНОЛОВЫЙ БУФЕР (IFCC)

ПРИНЦИП МЕТОДА

Щелочная фосфатаза (ALP) катализирует в щелочной среде перенос фосфатной группы от 4-нитрофенилфосфата к 2-амино-2-метил-1-пропанолу (AMP), освобождая 4-нитрофенол. Активность фермента определяется по скорости образования 4-нитрофенола, оптическая плотность которого измеряется при 405 нм¹.



НАБОРЫ

	КОД 11592	КОД 11593	КОД 11598
A. Реагент	1 x 40 мл	1 x 160 мл	4 x 100 мл
B. Реагент	1 x 10 мл	1 x 40 мл	2 x 50 мл

СОСТАВ

A. Реагент: 2-Амино-2-метил-1-пропанол 0.4 моль/л, сульфат цинка 1.2 ммоль/л, N-гидроксиэтилендиаминтриуксусная кислота 2.5 ммоль/л, ацетат магния 2.5 ммоль/л, pH 10.4

B. Реагент B: 4-Нитрофенилфосфат 60 ммоль/л.

ХРАНЕНИЕ

Хранить при 2-8°C.

Реагенты и стандарт стабильны до окончания срока годности, указанного на этикетке, при хранении в плотно закрытом сосуде и предотвращении загрязнения во время использования.

Признаки загрязнения:

– Реагенты: присутствие взвешенных частиц, мутность, абсорбция бланка выше 1.200 при 405 нм (1 см кювета).

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА

Рабочий реагент:

- Код 11592 и 11593: Перенесите содержимое Реагента B во флакон C Реагентом A. Тщательно перемешать. Другие объемы рабочего реагента могут быть приготовлены по пропорции 4 мл Реагента A + 1 мл Реагента B. Стабильно в течение 2 месяцев при 2-8°C.
- Код 11598: Перенесите 25 мл из флакона с Реагентом B во флакон с Реагентом A. Тщательно перемешать. Другие объемы рабочего реагента могут быть приготовлены по пропорции 4 мл Реагента A + 1 мл Реагента B. Стабильно в течение 2 месяцев при 2-8°C.

НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

– Анализатор, спектрофотометр или фотометр с термостатируемой измерительной ячейкой с температурным режимом 25, 30 или 37°C и с фильтром 405 нм

– Кювета с длиной оптического пути 1 см.

ОБРАЗЦЫ

Сыворотка и плазма, полученные с помощью стандартных процедур.

Щелочная фосфатаза в сыворотке или плазме стабильна в течение 7 дней при 2-8°C.

Гепарин может быть использован в качестве антикоагулянта.

ПРОЦЕДУРА

1. Довести Рабочий Реагент и оборудование до температуры реакции.

2. Внести в кювету (примечание 1):

Рабочий Реагент	1.0 мл
Образец	20 мкл

3. Перемешать и поставить кювету в измерительную ячейку фотометра.

4. Измерить начальную абсорбцию, повторить измерение в течение 3 минут с интервалом в 1 минуту.

5. Рассчитать разницу последовательных показателей абсорбции и рассчитать среднюю разницу абсорбции в минуту ($\Delta A/\text{мин}$).

РАСЧЕТ

Концентрация ЩФ в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\Delta A/\text{мин} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon l \times Vs} = \text{Ед/л}$$

Коэффициент молярной абсорбции (ϵ) 4-нитрофенола при 405 нм составляет 18450, оптический путь (l) составляет 1 см, общий реакционный объем (Vt) равен 1.02, объем образца (Vs) равен 0.02, и 1Ед/л равна 0.0166 мкКат/л. Для расчета активности фермента используйте следующие факторы:

$\Delta A/\text{мин}$	x 2764 = Ед/л
	x 46.08 = мкКат/л

НОРМАЛЬНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Температура реакции	мужчины ³	женщины ³
25°C, до	75 Ед/л = 1.25 мкКат/л	68 Ед/л = 1.13 мкКат/л
30°C, до ²	87 Ед/л = 1.45 мкКат/л	80 Ед/л = 1.33 мкКат/л
37°C, до ²	115 Ед/л = 1.92 мкКат/л	105 Ед/л = 1.75 мкКат/л

Величины для 25°C получены с помощью величин для 30°C с использованием фактора перевода. Концентрации у растущих детей выше и широко варьируются. Данные величины ориентировочны, каждая лаборатория должна устанавливать свои диапазоны нормальных значений.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проведения контроля качества теста и процедуры исследования рекомендуется использовать Контрольную сыворотку Уровень I (код 18005, 18009 и 18042) и уровень II (код 18007, 18010 и 18043). Каждая лаборатория должна выработать собственную схему внутреннего контроля качества и процедуры для коррекции действий в случае, если контроль качества не укладывается в приемлемые диапазоны.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

– Предел обнаружения: 1.0 Ед/л = 0.017 мкКат/л.

– Предел линейности: 1200 Ед/л = 20 мкКат/л. Для более высоких значений следует развести образец дистиллированной водой в 2 раза и повторить измерение.

– Сходимость (внутри серии):

Средняя концентрация	CV	n
61 Ед/л = 1.02 мкКат/л	1.0 %	20
244 Ед/л = 4.07 мкКат/л	0.7 %	20

– Воспроизводимость (между сериями):

Средняя концентрация	CV	n
61 Ед/л = 1.02 мкКат/л	3.4 %	25
244 Ед/л = 4.07 мкКат/л	1.1 %	25

– Достоверность: Результаты, полученные с данными реагентами не показывали значительных отличий при сравнении с результатами, полученными с другими реагентами. Детали сравнительных экспериментов доступны по требованию.

– Интерференция: Липемические образцы (триглицериды < 10 г/л) и билирубин (20 мг/дл) не влияют на результаты. Гемоглобин (>2.5 г/л) может влиять на результаты. Некоторые вещества и лекарства могут искажать результат³.

Данные метрологические характеристики были получены при использовании анализатора, при использовании другого оборудования или ручных методов результаты могут варьировать.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз органических фосфатных моноэфиров в щелочной среде. Фермент присутствует практически во всех тканях организма, особенно в клеточных мембранах, и встречается в особенно высоких концентрациях в плаценте, эпителии кишечника, почечных канальцах, остеобластах и печени.

Форма, присутствующая в сыворотке нормального взрослого человека возникает главным образом в печени и костной ткани.

Повышение сывороточной ЩФ найдено у пациентов с заболеваниями костей, связанными с повышенной активностью остеобластов (болезнь Педжета, первичный и вторичный гиперпаратирозидизм, метастазах в кости, рахитиз, остеопороз, переломах), а также у пациентов с заболеваниями гепатобилиарной системы (обтурационной желтухой, гепатитами, гепатотоксичностью, вызванной различными лекарствами, раком печени). Физиологические изменения, такие как костный рост и беременность, могут вызвать повышение уровня ЩФ^{4,5}.

Клинический диагноз не должен основываться на результатах отдельного теста, он должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Данные реагенты могут быть использованы в различных автоматических анализаторах. Инструкции доступны по требованию.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49:1439-1446.
2. Rosalki SB, Foo AY, Burlina A, et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin Chem* 1993; 39:648-652.
3. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
4. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
5. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.