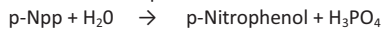


**ALKALINE PHOSPHATASE
АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА
КИНЕТИЧЕН МЕТОД****ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА В СЕРУМ****ПРИНЦИП НА МЕТОДА**

Alk. Phosphatase



p-Npp е безцветен, но p-Nitrophenol има силна абсорбция при 405 nm.

Скоростта на повишение на абсорбцията измерена при 405nm е пропорционална на ензимната активност.

РЕАГЕНТИ

При разтваряне според инструкциите на опаковката реагентът съдържа:

p-Nitrophenyl Phosphate 17 mM

Magnesium Ions 4mM

Buffer (pH 10.2 ± 0.2)

Активатор и свързващо вещество

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реагентите са само за "ин витро" употреба. Трябва да се спазват обичайните предпазни мерки за работа с лабораторни реагенти, като се избягва поглъщане или контакт с кожата или очите.

Използвайте дестилирана или дейонизирана вода, както е указано.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ НА РЕАГЕНТИТЕ

Съхранявайте реагентите при 2-8°C. Разтвореният реагент е стабилен 30 дни в хладилник (2-8°C) и 24 часа при стайна температура.

Реагентът трябва да бъде изхвърлен ако има признаци на помътняване, което може да е признак за замърсяване. Реагентът трябва да бъде изхвърлен ако в сухия реагент има образувани бучки, които могат да се дължат на евентуално проникване на влага. Разтвореният реагент не трябва да се използва, ако абсорбцията, измерена при 405 nm спрямо вода е по-висока от 0.8.

СЪБИРАНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

Препоръчително е да се използва нехемолизиран серум. Може да се използва и хепаринизирана плазма. Оксалатът, флуоридът и EDTA инхибират алкалната фосфатаза и не са подходящи за употреба като антикоагуланти. Пробите трябва да се съхраняват на студено и да се изследват възможно най-бързо след вземането им, тъй като нивата на алкална фосфатаза в серум или плазма, както и в приготвен контролен серум се повишават значително при съхранение в хладилник или при стайна температура.

ИНТЕРФЕРИРАЩИ СУБСТАНЦИИ

EDTA, цитрат, флуорид и оксалат инхибират алкалната фосфатаза. В литературата е посочен изчерпателен списък на медикаментите, които могат да окажат интерфериращо въздействие.

ПРОЦЕДУРА ЗА МАНУАЛНА РАБОТА

1. Разтворете реагента според инструкциите.
2. Пипетирайте по 1.0ml от реагента в съответните епруветки и ги оставете да се темперират при 37°C.
3. Нулирайте спектрофотометъра с вода при 405 nm.
4. Добавете 0.025ml (25µl) от пробата към реагента. Разбъркайте добре.
5. След една минута отчетете абсорбцията. Върнете епруветката при 37°C. Повторете отчитането на всяка минута през следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбция на минута ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).
7. Умножете ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) по фактор 2187, за да получите резултатите в IU/L.
8. Пробите със стойности над 800 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

Забележка: Ако спектрофотометърът е с термостатирана кювета, сместа на реакцията може да бъде оставена в нея до края на отчитанията.**ИЗЧИСЛЕНИЯ**

$$\text{IU/L} = \frac{\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{TV} \times 1000}{\text{E} \times \text{LP} \times \text{SV}} = \frac{\Delta\text{Abs}/\text{min} \times 1000 \times 1.025}{18.75 \times 1 \times 0.025}$$

$$= \Delta\text{Abs}/\text{min} \times 2187$$

Където:

$\Delta\text{Abs}/\text{min}$	= средна разлика в абсорбцията на минута
TV	= общ обем на реакцията (1.025)
1000	= преизчисление на IU/ml в IU/L
E	= милимоларна абсорбтивност на p-Nitrophenol
LP	= светлинен път (1cm)
SV	= обем на пробата (0.025ml)

Пример: Ако $\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0.007$ то $0.007 \times 2187 = 15.3$ IU/L

За да се конвертират резултатите в SI единици (nkat/L), умножете стойността в IU/L по 16.67

Забележка: Ако параметрите на теста се променят, факторът трябва да се преизчисли с горепосочената формула.

РЕЗЕРВНА ПРОЦЕДУРА

Ако спектрофотометърът изисква крайни количества по-големи от 0.50 ml, изпълнете следната процедура:

1. Пригответе работния реагент според инструкциите.
2. Пипетирайте по 0.50ml (500µl) от реагента в съответните епруветки и ги оставете да се темперират при 37°C.
3. Нулирайте спектрофотометъра с вода при 405 nm.
4. Добавете 0.010ml (10µl) от пробата към реагента. Разбъркайте добре.
5. След една минута отчетете абсорбцията. Върнете епруветката при 37°C. Повторете отчитането на всяка минута през следващите две минути.
6. Изчислете средната разлика в абсорбция на минута ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$).
7. Умножете ($\Delta\text{Abs}/\text{min}$) по фактор 2720, за да получите резултатите в IU/L.
8. Пробите със стойности над 800 IU/L трябва да бъдат разредени 1:1 с физиологичен разтвор, тествани повторно и резултатите от тях да се умножат по 2.

ИЗЧИСЛЕНИЯ

$$\frac{\Delta\text{Abs}/\text{min} \times 1000 \times 0.510}{1 \times 18.75 \times 1 \times 0.010} = (A2 - A1) \times 2720$$

$$1 \times 18.75 \times 1 \times 0.010$$

Където: $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ = разлика в абсорбциятаПример: $A1 = 0.40$, $A2 = 0.60$, то $(0.60 - 0.40) \times 2720 = 0.2 \times 2720 = 146$ IU/L

Забележка: Ако параметрите на теста се променят, факторът трябва да се преизчисли с горепосочената формула.

ОГРАНИЧЕНИЯ

Този метод измерва тоталната алкална фосфатаза независимо от вида на тъканта или органа, от който произхожда. За диференциална диагноза може да са необходими допълнителни тестове.

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Възрастни: 25-90 IU/L при 37 °C. Децата имат по-високи нормални стойности.

Препоръчително е всяка лаборатория да установи свой диапазон на очаквани стойности.

ХАРАКТЕРИСТИКИ НА ТЕСТА

1. Линейност: 900 IU/L.
2. Сравнения: Изследване, сравняващо настоящия метод с подобен метод даде коефициент на корелация 0.99 и уравнение на регресията $y = 0.95x + 3.50$.
3. Точност:

	В серия	Между серии
Средна стойн.	76.1	331.3
Станд. откл.	2.1	15.4
C.V.(%)	2.7	4.6
		75.3
		5.1
		6.7
		328.6
		11.26
		3.4

RE:12/01

Производител: Teco Diagnostics, 1268 N. Lakeview Avenue, Anaheim, CA 92807 USA Tel. 714 693 7788 Fax: 714 693 3838**Вносител:** "ЕТГ" ЕООД, София 1504, ул. Тракия №15, офис 1