

Жидкие реагенты, готовые к использованию.

Щелочная фосфатаза

opt. DGKC

2 реагента

Диагностический реагент для количественного определения *in vitro* общего количества щелочной фосфатазы (ALP) в человеческой сыворотке или плазме при помощи фотометрических систем.

REF	Cont.		
D95560	5 x 100 ml.	4 x 100 ml. 1 x 100 ml.	Реагент 1. Реагент 2.
D95561	5 x 50 ml.	4 x 50 ml. 1 x 50 ml.	Реагент 1. Реагент 2.
D98485	5 x 3 ml.		Diacal Auto
D98481	12 x 5 ml.		Diacon N
D98482	12 x 5ml.		Diacon P

Параметры тестирования

Метод: Цветометрический, Кинетический, метод нарастающей реакции, оптимизированный метод DGKC.

Длина волны: 405 nm (400-420 nm).

Температура: 25 ° C, 30° C; 37° C.

Образец: сыворотка, гепаринизированная плазма.

Линейность: до 858 U/L (для запуска субстрата)
До 689 U/L (для запуска образца)

Чувствительность: Нижний предел детекции 3 U/L.

Состав реагента

Компоненты

Конечная концентрация

Реагент 1:

Диетаноламин pH 9.8

1.0 mol/L

Хлорид магнезия

0.5 mmol/L

Реагент 2:

p-нитрофенилфосфат

10 mmol/L

Подготовка реагента

Реагент 1:

Запуск субстрата:

Реагенты готовы к использованию.

Реагент 2:

Запуск образца:

Смешайте 4 части Реагента 1 с 1й частью Реагента 2. (= Рабочий реагент).

Стабильность реагента и условия хранения

Условия хранения: Защищать от прямого света. Закрывайте сразу после использования.

Запуск субстрата:

Хранение: при 2-8° С.
 Стабильность: до истечения срока годности.
 Запуск образца (Рабочий реагент):
 Стабильность: при 2-8° С – 4 недели.
 при 15-25° С – в течение 5 дней < 10%.
 Максимально допустимая абсорбция рабочего реагента измеряемая при 405 nm.
 относительно воды - 1.0.

Стабильность образца и условия хранения

Стабильность: при 4-8° С – 7 дней.
 при -20° С – 2 месяца.
 Потеря активности: при 15-25° С – в течение 2-3 дней < 10%.
 Удалите загрязненные образцы.

Смешивающиеся вещества

Смешивания не происходит вплоть до значений
 Аскорбиновая кислота 30 mg/dl
 Билирубин 40 mg/dl
 Гемоглобин 150 mg/dl
 Триглицерид 2000 mg/dl

Процедура тестирования вручную

Доведите реагенты и образцы до комнатной температуры.

Запуск субстрата

Капать из пипетки в пробирки для тестирования	25° С, 30° С, 37° С
Реагент 1	1000 µl
Образец	20 µl
Выдержите смесь приблизительно 1 минуту, затем добавьте:	
Реагент 2	250 µl
Смешайте. Определите изначальную абсорбцию относительно воздуха после 1-й минуты и запустите таймер. Снова вычислите абсорбцию в точности через 1, 2 и 3 минуты. Определите $\Delta A/\text{min}$ на линейном этапе анализа.	

Запуск образца

Капать из пипетки в пробирки для тестирования	25° С, 30° С, 37° С
Рабочий реагент	1000 µl
Образец	20 µl
Смешайте. Определите изначальную абсорбцию относительно воздуха после 1-й минуты и запустите таймер. Снова вычислите абсорбцию в точности через 1, 2 и 3 минуты. Определите $\Delta A/\text{min}$ на линейном этапе анализа	

Расчеты (световая траектория 1 см.)

Щелочная фосфатаза (U/L) = $\Delta A/\text{min}$. x фактор

Факторы (25/30/37° C):
Запуск субстрата: 3433
Запуск образца: 2757

Перевод единиц:

U/L x 0.01667 = μ katal/L

Нормированная область значений* (U/L)

	Возраст	25° C	30° C	37° C
Взрослые:		<170	<211	<258
Дети:	1-12 лет	<480	<596	<727
Женский пол	13-17 лет	<296	<367	<448
Мужской пол	13-17 лет	<617	<767	<935

* Рекомендуется устанавливать собственные лабораторные области значений.

Принципы тестирования

p-нитрофенилфосфат + H₂O щелочная фосфатаза

p-нитрофенол + фосфат

В щелочных условиях бесцветный p-нитрофенол превращается в 4-нитрофеноксид, ярко-желтого цвет.

Его интенсивность пропорциональна активности щелочной фосфатазы в образце.

Характеристики проведения тестирования

Линейность

Этот тест предназначен для определения показателей щелочной фосфатазы, которые соответствует максимальному значению $\Delta A/\text{min.} = 0.25$.

В том случае если значение превышено, необходимо разбавить образец при помощи раствора NaCl (9 g/L поваренной соли в воде).

Точность (при 25 ° C)

Внутренний анализ n = 20	Среднее значение (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Образец 1	116	1.69	1.46
Образец 2	227	2.07	0.91
Образец 3	281	2.89	1.03

Промежуточный анализ n = 20	Среднее значение (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Образец 1	122	1.91	1.57
Образец 2	227	1.88	0.83
Образец 3	284	2.41	0.85

Сопоставление методов

Сравнение метода измерения щелочной фосфатазы DIALAB DGKC (y) и теста, имеющегося в продаже, (x) при использовании 65 образцов дало следующие результаты:

$$y = 0.98 x - 2.21 \text{ U/L}; r = 0.999.$$

Контроль качества

Можно использовать все контрольные сыворотки со значениями, определенными этим методом.

Наши рекомендации:

Ref	Cont		
D98481	12 x 5 ml.	DIACON N	Контрольная сыворотка Assayed Control Serum Normal
D98482	12 x 5 ml.	DIACON P	Контрольная сыворотка Assayed Control Serum Abnormal

Регулировка

Использование Калибратора АСР не является обязательным.

Наши рекомендации:

Ref	Cont		
D98485	5 x 3 ml.	DIACAL AUTO	Контрольная мульти-калибрационная сыворотка Assayed Multi Calibration Serum

Автоматизация

При необходимости можно предпринять специальные адаптационные меры для автоматических анализаторов.

Предупреждения и предостережения

1. Реагенты содержат азид натрия (0.95 g/L) в качестве консерванта. Не глотайте! Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.
2. Во время реакции выделяется р-нитрофенол, который способен вызвать отравление при вдыхании, проглатывании или абсорбции через кожу. Если реактивная смесь попадет на кожу или слизистые оболочки, тщательно промойте этот участок водой!
3. Примите все необходимые меры предосторожности, необходимые при использовании лабораторных реагентов.

Утилизация

Следуйте, пожалуйста, местным рекомендациям по утилизации.

Ссылки:

1. McComb, R.B. and Bowers, G.N. Jr., Clin. Chem. 18, 97, 1972.
2. Moss D.W., Proc. 2nd. International Symposium on Clinical Enzymology, Mount Sinai Medical Center, Chicago, Illinois, 1975.

3. Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Recommended Methods for the determination of four enzymes in blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33, 291, 1974.
4. A Reference Method for Measurement of Alkaline Phosphatase Activity in Human Serum. Study Group on Alkaline Phosphatase. Chairman: N.W. Tietz, Clin. Chem., 21, 5, 1975.
5. Tietz N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry 2nd Edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, 1976.
6. Young, D.S., Pestaner, L.C. and Gibberman, V., Clin. Chem., 21, 5, 1975.
7. Z. Clin. Chem. Klin. Biochem., 8, 658, (1970), 10, 182, (1972).
8. Kübler, W., Symp. D. Deutsch. Ges. für Lab. Med. 8 (1973).

Жидкостные реагенты, готовые к использованию

Щелочная фосфатаза

mod. IFCC
2 Реагента

Диагностический реагент для количественного *in vitro* определения щелочной фосфатазы (ALP) в человеческой сыворотке или плазме на фотометрических системах.

REF	Cont.		
D03101B	1 x 1.2 L	1 x 1 L Реагент 1 1 x 250 mL Реагент 2	
D95564	5 x 100 mL	4 x 100 mL Реагент 1 1 x 100 mL Реагент 2	
D95565	5 x 50 mL	4 x 50 mL Реагент 1 1 x 50 mL Реагент 2	
D00523	5 x 25 mL	4 x 25 mL Реагент 1 1 x 25 mL Реагент 2	
D00524	5 x 10 mL	4 x 10 mL Реагент 1 1 x 10 mL Реагент 2	
DA0803*	5 x 50 mL	5 x 40 mL Реагент 1 5 x 10 mL Реагент 2	
Опционально:			
D98485	5 x 3 mL	Калибратор	Diacal Auto
D98481	12 x 5 mL	Контроль нормы	Diacon N
D98482	12 x 5 mL	Контроль патологии	Diacon P

Параметры теста

Метод:	Колориметрия, Кинетика, Возрастающая реакция, mod. IFCC
Длина волны:	405 нм (400 – 420 нм)
Температура:	37°C
Образец:	Сыворотка, гепаринизированная плазма
Линейность:	до 4000 U/L (на Hitachi 911)
Чувствительность:	Нижний предел 2 U/L

Состав реагентов

Компоненты	Конечная концентрация
Реагент 1:	
2-Амино-2-Метил-1-Пропанол	0.90 моль/л
pH 10.4	
Ацетат магния	1.6 ммоль/л
Сульфат цинка	0.4 ммоль/л
HEDTA	2.0 ммоль/л
Реагент 2:	
p-Нитрофенилфосфат	16.0 ммоль/л

Подготовка реагентов:

Реагенты готовы к использованию

Образцы:

Смешайте 4 части реагента 1 с 1 частью реагента 2. (= Рабочий реагент)

СТАБИЛЬНОСТЬ И ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Условия: Защита от света (реагент 2!) Закрывать немедленно после использования
Не замораживать!

Субстрат:

Хранение: при 2 –до 8°C
Стабильность: До истечения срока годности

Рабочий реагент:

Стабильность: при 2 до 8°C 4 недели
при 15 до 25°C 5 дней
Максимально допустимое поглощение рабочего реагента при 405 нм с водой в качестве эталона составляет 1,0.

Стабильность и хранение образцов

Стабильность: при 4 – 8°C 7 дней
при -20°C 2 месяца
Потеря активности: при 15 – 25°C за 2 – 3 дня < 10%
Утилизируйте загрязненные образцы.

Интерферирующие вещества

нет интерференции до:
аскорбиновая кислота 30 мг/дл
коњурированный билирубин 60 мг/дл
некоњурированный билирубин 25 мг/дл
триглицериды 2000 мг/дл

Процедура рутинного анализа

Приведите реагенты и пробы к комнатной температуре. **Старт субстрата 37°C**

Дозирование :	Бланк:	Проба:
Реагент 1	1000 мкл	1000 мкл
Проба		20 мкл
Дист. вода	20 мкл	
Смешать. Инкубация примерно 1 минута. Добавить затем:		
Реагент 2	250 мкл	250 мкл
Mix. Read initial absorbance after 1 minute and start a timer. Read absorbance again after exactly 1, 2 and 3 min.		

Старт пробы 37°C

Дозирование	Бланк:	Проба:
Рабочий реагент	1000 мкл	1000 мкл
Проба		20 мкл
Дист. вода	20 мкл	
Смешать. Считать начальное поглощение через 1 минуту и запустить таймер. Считать поглощение через 1, 2 и 3 минуты.		

Расчёт (длина оптического пути 1 см)

$\Delta A / \text{мин} = [\Delta A / \text{мин проба}] - [\Delta A / \text{мин бланк}]$

Щелочная фосфатаза (U/L) = $\Delta A / \text{мин} \times \text{Фактор}$

Факторы (37°C):

Старт субстрата: 3433
Старт пробы: 2757

Перевод единиц измерения

U/L x 0.01667 = мккат/л

Референсный диапазон*(U/L)

Взрослые:	Возраст	37 °C
Женщины	20-50	42–98
Женщины	> 60	53–141
Мужчины	20-50	53-128
Мужчины	> 60	56–119

Дети:	Возраст	37 °C	
		Жензины	Мужчины
	1–30 дней	48–406	75–319
	1 месяц–1год	124–341	82–383
	1–3 года	108-317	104–345
	4–6 года	96–297	93–309
	7–9 года	69–325	86–315
	10–12 года	51–332	42–362
	13–15 года	50–162	74–390
	16–18 года	47-119	52–171

* Рекомендуется каждой лаборатории определить свои диапазоны нормы.

Принцип теста

p-нитрофенилфосфат + H₂O Щелочная фосфатаза →
p-Нитрофенол + Фосфат

В щелочной среде, бесцветный p-нитрофенол превращается в 4-нитрофеноксид, который развивает очень интенсивный желтый цвет.

Его интенсивность пропорциональна активности щелочной фосфатазы в образце.

Рабочие характеристики

Линейность

Тест был разработан для определения активности щелочной фосфатазы, которая соответствуют максимальной ΔA/мин при 0.25.

Если значение превышено, то пробу следует развести в соотношении 1+9 раствором NaCl (9 г/л хлорид натрия в дист. воды) и результаты умножить на 10.

Воспроизводимость

Полная n = 20	Среднее [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Проба 1	68.6	0.58	0.85
Проба 2	107	0.71	0.67
Проба 3	243	0.97	0.40

Внутрианалитическая сходимость n = 20	Среднее [U/L]	SD [U/L]	CV [%]
Проба 1	69.2	1.37	1.99
Проба 2	104	1.22	1.08
Проба 3	238	2.40	1.01

Сопоставление методов

Сравнение Dialab Alkaline Phosphatase (y) и коммерчески доступного теста (x), используя 104 пробы дало следующие результаты: $y = 1.01 x + 1.51$ U/l; $r = 0.999$.

Контроль качества

Можно использовать всю контрольную сыворотку со значениями ALP, определенными этим методом
Мы рекомендуем:

REF	Cont.		
D98481	12 x 5 мл	DIACON N	Контроль Нормальная сыворотка
D98482	12 x 5 мл	DIACON P	Контроль Патологическая сыворотка

Калибровка

Использование ALP калибратора опционально.
Мы рекомендуем:

REF	Cont.	
D98485	5 x 3 мл	DIACAL AUTO

Автоматизация

Специальные адаптации для автоматических анализаторов могут быть изготовлены по запросу.

Предупреждения и меры предосторожности

1. Реагенты содержат азид натрия (0.95 г/л) в качестве консерванта. Не глотать! Избегать контакта с кожей и слизистой оболочкой.
2. Во реакции образуется p-нитрофенол, который ядовит при вдыхании, проглатывании или при контакте с кожей. Если реакционная смесь вступает в контакт с кожей или слизистой оболочкой, промойте большим количеством воды!
3. Примите необходимые меры предосторожности для использования лабораторных реагентов

Утилизация отходов

Обратитесь к своим местным требованиям.

Литература

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 36-46.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617-721.
3. Tietz NW, Rinker D, Shaw LM. IFCC method for alkaline phosphatase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:731-48.
4. Burtis CA, Ashwood ER. Eds. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1999. p. 1829.
5. Soldin JS, Hicks JM. Pediatric reference ranges. Washington: AACC Press, 1996. p. 5.



DIALAB Produktion und Vertrieb von chemisch – technischen Produkten und Laborinstrumenten Gesellschaft m.b.H.
A – 2351 Wiener Neudorf, Austria
IZ-NÖ Süd, Hondastrasse, Objekt M55
Phone: ++43 (0) 2236 660910-0
Fax: ++43 (0) 2236 660910-30 e-mail: office@dialab.at