

ALKALICKÁ FOSFATASA AMP LIQUID 500 (ALP-AMP L 500)

Kat. č. 10010216

Skladovat (+2 až +8) °C

Souprava pro stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatasy v séru a plazmě optimalizovanou metodou IFCC.

Princip metody

Alkalická fosfatasa (alkalická fosforylase monoesterů kyseliny orthofosforečné, EC 3.1.3.1. - ALP) štěpí v alkalickém prostředí 4-nitrofenylfosfát na 4-nitrofenol a fosfát. Mírou katalytické koncentrace enzymu je množství uvolněného 4-nitrofenolu, který se stanovuje fotometricky kinetickým postupem.

Činidla

R1 Pufr

2-amino-2-methyl-1-propanol, pH 10,4 (30 °C)
Octan hořečnatý
Síran zinečnatý
HEDTA

4 x 100 ml

434 mmol/l

2,48 mmol/l

1,24 mmol/l

2,48 mmol/l

R2 Substrát

4-nitrofenylfosfát

1 x 100 ml

81,6 mmol/l

Složení reakční směsi

2-amino-2-methyl-1-propanol, pH 10,4 (30 °C)

350 mmol/l

Octan hořečnatý

2 mmol/l

Síran zinečnatý

1 mmol/l

HEDTA

2 mmol/l

4-nitrofenylfosfát

16 mmol/l

Příprava a stabilita pracovních roztoků

Dvoureagenční metoda – start substrátem

Činidla R1 a R2 jsou kapalná a určená k přímému použití.

Skládovaná před i po otevření při (+2 až +8) °C a chráněná před světlem a kontaminací jsou stabilní do data expirace, uvedeného na obale.

Jednoreagenční metoda – start vzorkem

Pracovní roztok se připraví smícháním 4 dílů činidla R1 s 1 dílem činidla R2.

Stabilita: 1 týden při (+15 až +25) °C v temnu

4 týdny při (+2 až +8) °C v temnu

Maximální přípustná absorbance pracovního roztoku je 1,0 při 420 nm proti destilované vodě.

Vzorky

Nehemolytické sérum nebo plazma (heparin).

Stabilita ALP ve vzorku je 1 týden při (+2 až +8) °C.

Kalibrace

Ke kalibraci se doporučuje Lyonorm kalibrátor, kat. č. 10003200.

Kontrola kvality

Ke kontrole se doporučuje

Lyonorm HUM N, kat. č. 10003204

Lyonorm HUM P, kat. č. 10003206

Postup měření

Vlnová délka

420 (405 – 430) nm

Kýveta

1 cm

Teplota

+37 °C

Objemový poměr sérum/reakční směs

1/51

Objem pracovních roztoků a vzorků lze měnit, pro garanci analytických parametrů však jejich vzájemný poměr musí být zachován.

Dvoureagenční metoda – start substrátem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo R1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorek	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–
Promíchá se, preinkubuje se 5 minut při 37 °C a pak se přidá			
Činidlo R2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml

Promíchá se, inkubuje se 1 minutu při 37 °C a měří se absorbance vzorku a kalibrátoru proti reagenčnímu blanku v jednodinutových intervalech po dobu 3 minut. Vypočte se průměrná změna absorbance za 1 minutu ($\Delta A/\text{min}$).

Jednoreagenční metoda – start vzorkem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Pracovní roztok	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Vzorek	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Promíchá se, inkubuje se 1 minutu při 37 °C a měří se absorbance vzorku a kalibrátoru proti reagenčnímu blanku v jednodinutových intervalech po dobu 3 minut. Vypočte se průměrná změna absorbance za 1 minutu ($\Delta A/\text{min}$).

Aplikace na automatické analyzátoři jsou dodávány na vyžádání.

Výpočet

$$\text{Alkalická fosfatasa } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{vz}}/\text{min}}{\Delta A_{\text{kal}}/\text{min}} \times C_{\text{kal}}$$

 C_{kal} = koncentrace kalibrátoru

Přepočet jednotek

1 kat/l = 1 mol/l.s

1 $\mu\text{kat/l}$ = 60 U/l

Referenční hodnoty

fS ALP ($\mu\text{kat/l}$) 37 °C

Muži

0,67–2,15

Ženy

0,58–1,74

Děti (chlapci od 13 do 17 let)

< 6,15

Děti (dívky od 13 do 17 let)

< 3,11

Novorozenci

< 4,17

Referenční rozmezí je pouze orientační, doporučuje se, aby si každá laboratoř ověřila rozsah referenčního intervalu pro populaci, pro kterou zajišťuje laboratorní vyšetření.

Výkonnostní charakteristiky

Linearity: do 17 $\mu\text{kat/l}$

Mez detekce: 0,06 $\mu\text{kat/l}$

Dolní mez stanovitelnosti: 0,17 $\mu\text{kat/l}$

Pracovní rozsah: 0,17–17 $\mu\text{kat/l}$

Přesnost (při 37 °C)

INTRA-ASSAY n = 20	Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	1,40	0,01	1,00
Vzorek 2	3,63	0,02	0,44
Vzorek 3	10,45	0,06	0,58
INTER-ASSAY n = 20	Průměr ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorek 1	1,41	0,02	1,07
Vzorek 2	3,62	0,03	0,77
Vzorek 3	10,46	0,10	0,98

Pravdivost:

Bias: –1,3% (1,53 $\mu\text{kat/l}$)

+1,9% (3,74 $\mu\text{kat/l}$)

Srovnání: s komerčně dostupnou metodou. Lineární regrese:

 $N = 100, r = 0,999, y = 0,928x - 0,083 \mu\text{kat/l}$

Interference

Následující analyty neinterferují:

bilirubin do 1000 $\mu\text{mol/l}$, triglyceridy do 20 mmol/l, hemoglobin do 7 g/l.

Poznámka

- Vzorky s katalytickou koncentrací ALP nad 17 $\mu\text{kat/l}$ ($\Delta A/\text{min} > 0,240$) se ředí v poměru 1 + 9 fyziologickým roztokem (0,9% NaCl) a analýza se opakuje. Výsledek se násobí 10x.
- Postup kalibrace pomocí molárního absorpčního koeficientu dodáme na vyžádání.

Bezpečnostní charakteristiky

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a profesionálně vyškolenou osobou.

Činidlo 1 není klasifikované jako nebezpečné, ale obsahuje azid sodný (<0,1%), který je vysoce toxický a nebezpečný pro životní prostředí.

Činidlo 2 obsahuje azid sodný (<0,1%), který je vysoce toxický a nebezpečný pro životní prostředí, žravý hydroxid draselný (<0,7%) a kyselinu chlorovodíkovou (<0,4%).



Varování

Standardní věty o nebezpečnosti:

H315

Dráždí kůži.

H319

Způsobuje vážné podráždění očí.

Pokyny pro bezpečné zacházení:

P280

Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle.

P302+P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody.

P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

První pomoc

Při náhodném požití vypláchnout ústa a vypít asi 0,5 l vody, při potřísnění pokožky nebo vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

Nakládání s odpady

Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potenciálně infekční a spolu s případnými zbytky činidel je likvidovat podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech.

Papírové a ostatní obaly se likvidují podle druhu materiálu jako tříděný odpad (papír, sklo, plasty).

Literatura

Tietz, N. W.: Textbook Of Clin. Chem., 677–684, W. B. Saunders, Co., Philadelphia, 1999

Datum poslední revize: 20. 1. 2015



ALKALICKÁ FOSFATÁZA AMP LIQUID 500 (ALP-AMP L 500)

Kat. č. 10010216

Skladovať (+2 až +8) °C

Súprava na stanovenie katalytickej koncentrácie alkalického fosfatázy v sére a plazme optimalizovanou metódou IFCC.

Princíp metódy

Alkalická fosfatáza (alkalická fosforyláza monoesterov kyseliny orthofosforečnej, EC 3.1.3.1. - ALP) štiepi v alkalickom prostredí 4-nitrofenylfosfát na 4-nitrofenol a fosfát. Mierou katalytickej koncentrácie enzýmu je množstvo uvoľneného 4-nitrofenolu, ktorý sa stanovuje fotometricky kinetickým postupom.

Činidlá

R1 Pufer

2-amino-2-methyl-1-propanol, pH 10,4 (30 °C)
Octan horečnatý
Síran zinočnatý
HEDTA

4 x 100 ml

434 mmol/l

2,48 mmol/l

1,24 mmol/l

2,48 mmol/l

R2 Substrát

4-nitrofenylfosfát

1 x 100 ml

81,6 mmol/l

Zloženie reakčnej zmesi

2-amino-2-methyl-1-propanol, pH 10,4 (30 °C)

350 mmol/l

Octan horečnatý

2 mmol/l

Síran zinočnatý

1 mmol/l

HEDTA

2 mmol/l

4-nitrofenylfosfát

16 mmol/l

Príprava a stabilita pracovných roztokov

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

Činidlá R1 a R2 sú kvapalné a určené na priame použitie.

Skladované pred i po otvorení pri (+2 až +8) °C a chránené pred svetlom a kontamináciou sú stabilné do dátumu expirácie, uvedeného na obale.

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

Pracovný roztok sa pripraví zmiešaním 4 dielov činidla R1 s 1 dielom činidla R2.

Stabilita: 1 týždeň pri (+15 až +25) °C v tme

4 týždne pri (+2 až +8) °C v tme

Maximálna prípustná absorbancia pracovného roztoku je 1,0 pri 420 nm proti destilovanej vode.

Vzorky

Nehemolytické sérum alebo plazma (heparín).

Stabilita ALP vo vzorke je 1 týždeň pri (+2 až +8) °C.

Kalibrácia

Na kalibráciu sa odporúča Lyonorm kalibrátor, kat. č. 10003200.

Kontrola kvality

Na kontrolu sa odporúča

Lyonorm HUM N, kat. č. 10003204

Lyonorm HUM P, kat. č. 10003206

Postup meraní

Vlnová dĺžka

420 (405–430) nm

Kýveta

1 cm

Teplota

+37 °C

Objemový pomer sérum/reakčná zmes

1/51

Objem pracovných roztokov a vzoriek je možné meniť, pre garanciu analytických parametrov však ich vzájomný pomer musí byť zachovaný.

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Činidlo R1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorka	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–
Premieša sa, preinkubuje sa 5 minút pri 37 °C a potom sa pridá			
Činidlo R2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml

Premieša sa, inkubuje sa 1 minútu pri 37 °C a meria sa absorbancia vzorky a kalibrátora proti reagenčnému blanku v jednomínutových intervaloch po dobu 3 minút. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie za 1 minútu ($\Delta A/\text{min}$).

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Pracovný roztok	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
Vzorka	–	–	0,020 ml
Kalibrátor	–	0,020 ml	–
Destilovaná voda	0,020 ml	–	–

Premieša sa, inkubuje sa 1 minútu pri 37 °C a meria sa absorbancia vzorky a kalibrátora proti reagenčnému blanku v jednomínutových intervaloch po dobu 3 minút. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie za 1 minútu ($\Delta A/\text{min}$).

Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.

Výpočet

$$\text{Alkalická fosfatáza } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{vz}}/\text{min}}{\Delta A_{\text{kal}}/\text{min}} \times C_{\text{kal}}$$

C_{kal} = koncentrácia kalibrátora

Prepočet jednotiek

1 kat/l = 1 mol/l.s

1 $\mu\text{kat/l}$ = 60 U/l

Referenčné hodnoty

fS ALP ($\mu\text{kat/l}$) 37 °C

Muži

0,67–2,15

Ženy

0,58–1,74

Deti (chlapci od 13 do 17 rokov)

< 6,15

Deti (dievčatá od 13 do 17 rokov)

< 3,11

Novorodenci

< 4,17

Referenčné rozmedzie je iba orientačné, odporúča sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zaisťuje laboratórne vyšetrenie.

Výkonnostné charakteristiky

Linearita: do 17 $\mu\text{kat/l}$

Medza detekcie: 0,06 $\mu\text{kat/l}$

Dolná medza stanoviteľnosti: 0,17 $\mu\text{kat/l}$

Pracovný rozsah: 0,17–17 $\mu\text{kat/l}$

Presnosť (pri 37 °C)

INTRA-ASSAY n = 20	Priemer ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorka 1	1,40	0,01	1,00
Vzorka 2	3,63	0,02	0,44
Vzorka 3	10,45	0,06	0,58
INTER-ASSAY n = 20	Priemer ($\mu\text{kat/l}$)	SD ($\mu\text{kat/l}$)	CV (%)
Vzorka 1	1,41	0,02	1,07
Vzorka 2	3,62	0,03	0,77
Vzorka 3	10,46	0,10	0,98

Pravdivosť:

Bias: –1,3 % (1,53 $\mu\text{kat/l}$)

+1,9 % (3,74 $\mu\text{kat/l}$)

Porovnanie: s komerčne dostupnou metódou. Lineárna regresia:

$N = 100$, $r = 0,999$, $y = 0,928x - 0,083 \mu\text{kat/l}$

Interferencie

Nasledujúce analyty neinterferujú:

bilirubín do 1000 $\mu\text{mol/l}$, triglyceridy do 20 mmol/l, hemoglobín do 7 g/l.

Poznámka

- Vzorky s katalytickou koncentráciou ALP nad 17 $\mu\text{kat/l}$ ($\Delta A/\text{min} > 0,240$) sa riedi v pomere 1 + 9 fyziologickým roztokom (0,9 % NaCl) a analýza sa opakuje. Výsledok sa násobí 10x.
- Postup kalibrácie pomocou molárneho absorpčného koeficientu dodáme na vyžiadanie.

Bezpečnostné charakteristiky

Určené pre *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a profesionálne vyškolenou osobou. Činidlo 1 nie je klasifikované ako nebezpečné, ale obsahuje azid sodný (<0,1%), ktorý je veľmi toxický a nebezpečný pre životné prostredie.

Činidlo 2 obsahuje azid sodný (<0,1%), ktorý je veľmi toxický a nebezpečný pre životné prostredie, žieravý hydroxid draselný (<0,7%) a kyselinu chlorovodíkovú (<0,4%).



Pozor

Výstražné upozornenie:

H315 Dráždi kožu.

H319 Spôsobuje vážne podráždenie očí.

Bezpečnostné upozornenie:

P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare.

P302+P352 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody.

P305+P351+P338 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.

Prvá pomoc

Pri náhodnom požití vypláchnuť ústa a vypiť asi 0,5 l vody, pri postriekaní pokožky alebo vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadať lekársku pomoc.

Zaobchádzanie s odpadmi

Na všetky spracované vzorky je nutné pozerat ako na potencionálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidiel ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákom o odpadoch.

Papierové a ostatné obaly sa likvidujú podľa druhu materiálu ako triedený odpad (papier, sklo, plasty).

Literatúra

Tietz, N. W.: Textbook Of Clin. Chem., 677–684, W. B. Saunders, Co., Philadelphia, 1999.

Dátum poslednej revízie: 20. 1. 2015



ALKALINE PHOSPHATASE AMP LIQUID 500 (ALP-AMP L 500)

Cat. No. 10010216

Store (+2 at +8) °C

Reagents for determination of catalytic concentration of alkaline phosphatase in serum and plasma, optimised IFCC method.

Principle

Under alkaline conditions, alkaline phosphatase (alkaline phosphohydrolase of ortho-phosphoric monoesters, EC 3.1.3.1. - ALP), splits 4-nitrophenylphosphate into 4-nitrophenol and phosphate.

The measure of the catalytic concentration of the enzyme is the amount of released 4-nitrophenol, which is evaluated photometrically in a kinetic way.

Reagents

R1 Buffer

2-Amino-2-Methyl-1-Propanol, pH 10.4 (30 °C)	434 mmol/l
Magnesium acetate	2.48 mmol/l
Zinc sulphate	1.24 mmol/l
HEDTA	2.48 mmol/l

R2 Substrate

4-Nitrophenylphosphate	81.6 mmol/l
------------------------	-------------

Composition of mixture

2-Amino-2-Methyl-1-Propanol, pH 10.4 (30 °C)	350 mmol/l
Magnesium acetate	2 mmol/l
Zinc sulphate	1 mmol/l
HEDTA	2 mmol/l
4-Nitrophenylphosphate	16 mmol/l

Preparation and stability of working reagents

Two reagents method – substrate start

Reagents R1 and R2 are liquid, ready to use.

If stored at (+2 to +8) °C, reagents are stable until expiry date, that is stated on the package.

After opening, reagents are stable until expiry date at (+2 to +8) °C if stored at appropriate conditions, closed carefully and without any contamination.

Maximum allowable absorbance of the working reagent measured at 420 nm against distilled water is 1.0

Monoreagent method – sample start

Mix 4 portion of reagent R1 with 1 portion of reagent R2.

Stability: 1 week at (+15 to +25) °C in dark
4 weeks at (+2 to +8) °C in dark

Samples

Non – haemolytic serum, plasma (heparin).

Stability of alkaline phosphatase in serum and plasma is 1 week at (+2 to +8) °C.

Calibration

For the calibration, it is recommended to use Lyonorm Calibrator, Cat. No. 10003200.

Quality control

For quality control, it is recommended to use:

Lyonorm HUM N, Cat. No. 10003204

Lyonorm HUM P, Cat. No. 10003206

Procedure

Wavelength	420 (405 – 430) nm
Cuvette	1 cm
Temperature	+37 °C

Serum/reaction mixture ratio 1/51

Reagents and sample volume can be modified, by respecting reagents/sample volume ratio

Two reagents method – substrate start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Reagent 1	0.800 ml	0.800 ml	0.800 ml
Sample	–	–	0.020 ml
Calibrator	–	0.020 ml	–
Distilled water	0.020 ml	–	–
Mix and after 5 min. incubation (at 37 °C) add:			
Reagent 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml

Mix, incubate 1 min. at 37 °C and then measure the initial absorbance of calibrator and sample against reagent blank. Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA/min).

Monoreagent method – sample start

	Reagent blank	Calibrator	Sample
Working reagent	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml
Sample	–	–	0.020 ml
Calibrator	–	0.020 ml	–
Distilled water	0.020 ml	–	–

Mix, incubate 1 min. at 37 °C and then measure the initial absorbance of calibrator and sample against reagent blank. Measure the absorbance change exactly after 1, 2 and 3 min. Calculate 1 minute absorbance change (ΔA/min).

Applications for automatic analysers will be supplied on request.

Calculation

$$\text{Alkaline phosphatase } (\mu\text{kat/l}) = \frac{\Delta A_{\text{sample}}/\text{min}}{\Delta A_{\text{cal}}/\text{min}} \times C_{\text{cal}}$$

C_{cal} = calibrator concentration

Unit conversion

1 kat/l = 1 mol/l · s

1 μkat/l = 60 U/l

Reference values

fS ALP (μkat/l) 37 °C

Men

0.67 – 2.15

Women

0.58 – 1.74

Children (males up to 13 years)

< 6.15

Children (females up to 13 years)

< 3.11

Newborns

< 4.17

The range of reference values is only approximate, it is recommended that each laboratory verify the extent of the reference interval for their particular examined population.

Performance data

Linearity: up to 17 μkat/l

Limit of detection: 0.06 μkat/l

Low limit of quantification: 0.17 μkat/l

Working range: 0.17 – 17 μkat/l

Precision (at 37 °C)

INTRA-ASSAY n = 20	Mean (μkat/l)	SD (μkat/l)	CV (%)
Sample 1	1.40	0.01	1.00
Sample 2	3.63	0.02	0.44
Sample 3	10.45	0.06	0.58
INTER-ASSAY n = 20	Mean (μkat/l)	SD (μkat/l)	CV (%)
Sample 1	1.41	0.02	1.07
Sample 2	3.62	0.03	0.77
Sample 3	10.46	0.10	0.98

Accuracy

Bias: – 1.3% (1.53 μkat/l)

+ 1.9% (3.74 μkat/l)

Correlation: with commercial available method. Linear regression

N = 100, r = 0.999, y = 0.928x – 0.083 μkat/l

Interference

Following substances do not interfere:

bilirubin up to 1000 μmol/l, triglycerides up to 20 mmol/l, hemoglobin up to 7 g/l

Note

- If catalytic concentration of alkaline phosphatase exceeds 17 μkat/l (ΔA/min > 0.240), dilute the sample in 1+9 ration with saline (0.9 % NaCl). Multiply the results by 10.
- Procedure for calibration with use of molar absorbance coefficient is available on request.

Health protection

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person. Reagent 1 is not classified but it contains sodium azide (<0.1%) - very toxic substance, hazardous to environment.

Reagent 2 contain sodium azide (<0.1%) - very toxic substance, hazardous to environment, potassium hydroxide (<0.7%) - corrosive substance and acid hydrochloric (<0.4%).



Warning

Hazard statements:

H315 Causes skin irritation

H319 Causes serious eye irritation

Precautionary statements:

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection.

P302 + P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.

P305 + P351 + P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

First aid

In case of an accidental ingestion, wash up the mouth and drink about 0.5 l of water. On eye contact rinse the eye quickly and thoroughly with the jet of tap of water. Contaminated skin should be washed with warm water and soap. In all serious cases of health damage consult a physician.

Waste disposal

All tested samples should be treated as potentially infectious and with an eventual rest of reagents should be disposed in accordance with the internal regulations for dangerous waste, in compliance with local and national regulations relating to the safe handling of dangerous materials.

Paper packing and others should be handed over for recycling or discarded as sorted waste (paper, glass, plastic).

References

Tietz, N. W.: Textbook Of Clin. Chem., 677–684, W. B. Saunders, Co., Philadelphia, 1999.

Date of last revision: 20. 1. 2015



ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА AMP LIQUID 500
(ALP-AMP L 500)

Кат. № 10010216

Хранить при (+2 – +8) °С

Метод

Набор реагентов для определения активности щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме в соответствии с модификацией, рекомендованной Международной федерацией клинической химии (IFCC).

Принцип реакции

Щелочная фосфатаза (Фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты, ЕС 3.1.3.1.) в щелочной среде гидролизует 4-нитрофенилфосфат с образованием 4-нитрофенола и фосфата. Скорость образования окрашенного 4-нитрофенола пропорциональна активности щелочной фосфатазы. Активность щелочной фосфатазы измеряется фотометрическим кинетическим методом.

Реагенты

R1 Буфер

2-Амино-2-Метил-1-Пропанол, pH 10,4
Магния ацетат
Цинка сульфат
HЭДТА

4 x 100 мл

434 ммоль/л
2,48 ммоль/л
1,24 ммоль/л
2,48 ммоль/л

R2 Субстрат

4-Нитрофенилфосфат

1 x 100 мл

81,6 ммоль/л

Состав реакционной смеси

2-Амино-2-Метил-1-Пропанол, pH 10,4
Магния ацетат
Цинка сульфат
HЭДТА
4-Нитрофенилфосфат

350 ммоль/л
2 ммоль/л
1 ммоль/л
2 ммоль/л
16 ммоль/л

Приготовление и стабильность рабочих реагентов

Двухреагентный метод – старт субстратом

Реагенты R1 и R2 жидкие, готовые к использованию.

Реагенты стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +8) °С.

После вскрытия, реагенты стабильны до указанного срока годности, если хранятся при (+2 – +8) °С, в тщательно закрытых флаконах, избегая испарения или контаминации реагентов.

Монореагентный метод – старт образцом

Смешать 4 части раствора реагента 1 (R1) с 1 частью раствора реагента 2 (R2), тщательно перемешать.

Готовый рабочий раствор стабилен

7 дней при 15–25 °С при хранении в защищенном от света месте.
4 недели при 2–8 °С при хранении в защищенном от света месте.

Максимальное поглощение рабочего раствора, измеренного при 420 нм против воды 1,0

Образцы

Сыворотка, гепаринизированная плазма
Избегать гемолиза!

Стабильность щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме 1 неделя при 4–8 °С

Калибровка

Для калибровки рекомендуется использовать Лионорм Калибратор, Кат. № 10003200.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуется контрольная сыворотка:

Лионорм ГУМ Н, Кат. № 10003204

Лионорм ГУМ П, Кат. № 10003206

Анализ

Длина волны: Hg 420 (405–430) нм
Оптический путь: 1 см
Температура: (+25, +30) °С, 37 °С
Объемное соотношение
Сыворотка, плазма/реакционная смесь 1/51

Объемы образца и реагентов могут быть изменены при сохранении соотношения реагент/образец

Двухреагентный метод – старт субстратом

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Реагент 1	0,800 мл	0,800 мл	0,800 мл
Образец	–	–	0,020 мл
Калибратор	–	0,020 мл	–
Дистил. вода	0,020 мл	–	–
Смешать, инкубировать 5 мин. Добавить:			
Реагент 2	0,200 мл	0,200 мл	0,200 мл

Смешать, инкубировать 1 мин при 37 °С, измерить изменение оптической плотности калибратора и образца против бланка по реагенту. Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 мин. Рассчитайте среднее поглощение в 1 минуту (ΔA/мин).

Монореагентный метод – старт образцом

	Бланк по реагенту	Калибратор	Образец
Рабочий реагент	1,000 мл	1,000 мл	1,000 мл
Образец	–	–	0,020 мл
Калибратор	–	0,020 мл	–
Дистил. вода	0,020 мл	–	–

Смешать, инкубировать 1 мин при 37 °С, измерить изменение оптической плотности калибратора и образца против бланка по реагенту. Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 мин. Рассчитайте среднее поглощение в 1 минуту (ΔA/мин).
Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Расчеты

Рассчитайте активность щелочной фосфатазы в пробе, используя

1. Калибратор

$$\text{щелочная фосфатаза (Е/л; мккат/л)} = C_{\text{кал}} \times \frac{\Delta A_{\text{проб}} / \text{мин}}{\Delta A_{\text{кал}} / \text{мин}}$$

C_{кал} – значение активности щелочной фосфатазы в калибраторе

2. Фактор:

щелочная фосфатаза = Ф x ΔA/мин

Ф – фактор пересчета, см. нижеследующую таблицу

Факторы	25 , 30, 37 °С	
	Е/л	мккат/л
405 нм	2814,18	46,903
410 нм	2979,18	49,653
420 нм	3651,72	60,862
430 нм	5175,6	86,260

Козффициент пересчета

1 кат/л = 1 моль/л . сек

1 мккат/л = 60 Е/л

Нормальные величины

Щелочная фосфатаза: сыворотка, плазма

	37 °С	
	Е/л	мккат/л
Мужчины	40,2–129	0,67–2,15
Женщины	34,8–104,4	0,58–1,74
Дети (мальчики с 13 до 17 лет)	< 360	< 6,15
Дети (девочки с 13 до 17 лет)	< 186,6	< 3,11
Новорожденные	< 250,2	< 4,17

Приведенные диапазоны величин следует рассматривать как ориентировочные. Каждой лаборатории необходимо определять свои диапазоны.

Рабочие характеристики

Линейность: до 1020 Е/л (17 мккат/л)

Чувствительность: 3,6 Е/л (0,06 мккат/л)

Нижний предел определения: 10,2 Е/л (0,17 мккат/л)

Диапазон измерений: 10,2–1020 Е/л (0,17–17 мккат/л)

Воспроизводимость (при 37 °С)

Внутрисерийная (число измерений n = 20)	Среднеарифметическое значение		SD		CV (%)
	Е/л	мккат/л	Е/л	мккат/л	
Образец 1	84,0	1,40	0,6	0,01	1,00
Образец 2	217,8	3,63	1,2	0,02	0,44
Образец 3	627	10,45	3,6	0,06	0,58
Межсерийная (число измерений n = 20)	Среднеарифметическое значение		SD		CV (%)
	Е/л	мккат/л	Е/л	мккат/л	
Образец 1	84,6	1,41	1,2	0,02	1,07
Образец 2	217,2	3,62	1,8	0,03	0,77
Образец 3	627,6	10,46	0,6	0,10	0,98

Точность

Аналитическое смещение B (bias):

–1,3% (92 Е/л) (1,53 μkat/l)

+1,9% (224 Е/л) (3,74 μkat/l)

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 100 образцах с использованием реагентов Erba Lachema Щелочная фосфатаза AMP Liquid (y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).

Результаты: y = 0,928 x – 0,083 мккат/л, r = 0,999

Специфичность/Влияющие вещества:

Не влияют на результаты анализа:

билирубин до 1000 мкмоль/л, триглицериды до 20 ммоль/л, гемоглобин до 7 г/л.

Примечание

- Если активность щелочной фосфатазы превышает 17 мккат/л (1020 Е/л), (ΔA/мин > 0,240) разбавить образцы в соотношении 1+9 физраствором (0,9% NaCl) и повторить анализ, используя данное разведение. Полученный результат умножить на 10.
- Методика калибровки при использовании коэффицента молярной экстинкции высывается по запросу.
- Реагенты содержат азид натрия (0,9 г/л) в качестве консерванта. Не глотать. Избегать попадания на кожу и слизистые.

Меры предосторожности

Набор реагентов предназначен для *in vitro* диагностики профессионально обученным лаборантом.

Реагент 2 содержит гидроокись калия.

Обозначение опасности

H315Вызывает раздражение кожи.

H319Вызывает серьезное раздражение глаз. Пользоваться защитными перчатками / защитной одеждой / средствами защиты глаз / лица.

Меры предосторожности

P280 Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/ средствами защиты глаз.
P302+P352 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды.
P305+P351+P338 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.

Первая помощь

При приеме внутрь следует прополоскать рот водой, выпить 0,5 л воды и вызвать рвоту. При попадании в глаза быстро промыть их проточной водой. При попадании на кожу необходимо промыть теплой водой с мылом. Во всех серьезных случаях обратиться к врачу.

Утилизация использованных материалов

Все образцы теста должны рассматриваться как потенциально инфицированные и вместе с остальными реагентами должны быть уничтожены в соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материалов.

Бумажная упаковка и другое (бумага, стекло, пластик) должны быть рассортированы для выброса с мусором или отправления на переработку.

Литература

Tietz, N. W.: Textbook Of Clin. Chem., 677–684, W. B. Saunders, Co., Philadelphia, 1999.

Дата проведения последнего контроля: 20. 1. 2015

Представительство Erba Lachema s.r.o. в Российской Федерации

109029 г.Москва, ул.Нижегородская 32, корп.15, офис 503

тел. +7 (495) 755 55 80; 755 78 51, e-mail: lachema@mail.ru, www.eralachema.ru

