

ALKALINE PHOSPHATASE

Cat. No.	Pack Name	Packaging (Content)
BLT00003	ALP AMP 150	R1: 4 x 30 ml, R2: 1 x 30 ml
BLT00004	ALP AMP 500	R1: 4 x 100 ml, R2: 1 x 100 ml



INTENDED USE

Diagnostic reagent for quantitative *in vitro* determination of ALP in human serum or plasma.

CLINICAL SIGNIFICANCE

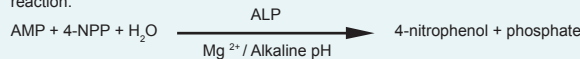
Human ALP consists of a group of enzymes which hydrolyse phosphates at an alkaline pH. ALP is found in practically all tissues of the body but in high concentrations in the osteoblasts of bone, liver, placenta, kidney, intestinal wall and lactating mammary glands. In adults the ALP normally found circulating in the serum is largely derived from the liver. In children or in adolescents going through pubertal growth spurts, there is an additional contribution from bone and this accounts for the higher reference interval for these groups. Pregnancy also raises the normal values of ALP.

Raised ALP levels are often observed in bone disease or liver disease involving the biliary tract. If the source of the isoenzyme is not apparent then estimation of GGT may help differentiate between the two. A raised GGT in the presence of a raised ALP would suggest the liver is the primary source.

Increased ALP (usually normal GGT) is seen in Osteomalacia and Rickets, primary hyperparathyroidism with bone involvement, Pagets disease, secondary carcinoma in bone and some cases of osteogenic sarcoma. Increased levels of ALP (usually with a raised GGT) is seen in cholestasis, hepatitis, cirrhosis, space occupying lesions and malignancy with bone or liver involvement or direct production. Low levels of ALP may be observed in conditions which cause arrested bone growth or in hypophosphatasia.

PRINCIPLE

The method according to IFCC recommendation. This method utilises 4-nitrophenyl phosphate as the substrate. Under optimised conditions ALP present in the sample catalyses the following reaction.



At the pH of the reaction, 4-nitrophenol has an intense yellow colour. The reagent also contains a metal ion buffer system to ensure that optimal concentrations of Zinc and Magnesium are maintained. The metal ion buffer can also chelate other potentially inhibitory ions which may be present. The reaction is monitored by measuring the rate of increase in absorbance at 405 or 415 nm which is proportional to the activity of ALP in the serum.

REAGENT COMPOSITION

R1	
AMP buffer, pH 10.4	434 mmol/l
Magnesium acetate	2.48 mmol/l
Zinc sulfate	1.24 mmol/l
HEDTA	2.48 mmol/l
R2	
p-nitrophenyl phosphate	19.5 mmol/l

REAGENT PREPARATION

Reagent is liquid, ready to use.

STABILITY AND STORAGE

The unopened reagents are stable till the expiry date stated on the bottle and kit label when stored at 2–8°C.

Two reagents method – substrate start

Reagents are ready to use. After opening, reagents are stable until expiry date at 2–8°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 15–25°C in dark
4 weeks at 2–8°C in dark

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Use serum, plasma (heparin, EDTA).

It is recommended to follow NCCLS procedures (or similar standardized conditions).

Stability in serum / plasma: 4 hours at 20–25°C
3 days at 4–8°C
2 months at -20°C

Discard contaminated specimens.



CALIBRATION

Calibration with calibrator XL MULTICAL, Cat. No. XSYS0034 is recommended.

QUALITY CONTROL

For quality control ERBA NORM, Cat. No. BLT00080 and ERBA PATH, Cat. No. BLT00081 are recommended.

UNIT CONVERSION

U/l x 0.017 = µkat/l

EXPECTED VALUES ⁴

at 37°C

Females:	4 - 15 years:	54 - 369 U/l
	20 - 50 years:	42 - 98 U/l
	≥ 60 years:	53 - 141 U/l
Males:	1 - 12 years:	54 - 369 U/l
	20 - 50 years:	53 - 128 U/l
	≥ 60 years:	56 - 119 U/l

It is recommended that each laboratory verify this range or derives reference interval for the population it serves.

PERFORMANCE DATA

Data contained within this section is representative of performance on ERBA XL systems. Data obtained in your laboratory may differ from these values.

Limit of quantification:	3.2 U/l
Linearity:	1080 U/l
Measuring range:	3.2 – 1080 U/l

Intra-assay precision Within run (n=20)	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Sample 1	297.6	2.58	0.87
Sample 2	460.8	4.92	1.07

Inter-assay precision Run to run (n=20)	Mean (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Sample 1	62.4	1.68	2.68
Sample 2	191.4	5.10	2.66

COMPARISON

A comparison between XL-Systems ALP (y) and a commercially available test (x) using 40 samples gave following results:

y = 0.947 x - 3.60 U/l
r = 0.996

INTERFERENCES

Following substances do not interfere:

haemoglobin up to 5 g/l, bilirubin up to 40 mg/dl, triglycerides up to 2000 mg/dl.

WARNING AND PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use. To be handled by entitled and professionally educated person.

Reagents of the kit contain less than 0.1% sodium azide - classified as very toxic and dangerous substance for the environment. Reagent R2 also contains <0.7% KOH and is classified as irritant.



Warning

Hazard statement:

H315 Causes skin irritation.

H319 Causes serious eye irritation.

Precautionary statement:

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.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local legal requirements.

ASSAY PROCEDURE

Wavelength: 420 (405 – 430) nm

Cuvette: 1 cm

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).

CALCULATION

$$1. \text{ALP (U/l)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}} / \text{min.}}{\Delta A_{\text{cal}} / \text{min.}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{calibrator concentration}$$

2. Using factor:

$$\text{ALP (U/l)} = f \times \Delta A / \text{min}$$

f = factor f = 2764 (at 405 nm)

Applications for automatic analysers are available on request.

ASSAY PARAMETERS FOR PHOTOMETERS

Mode	Kinetic
Wavelength (nm)	405
Sample Volume (µl)	10/20
Working Reagent Volume (µl)	500/1000
Lag time (sec.)	60
Kinetic interval (sec.)	60
No. of readings	3
Kinetic factor	2764
Reaction temperature (°C)	37
Reaction direction	Increasing
Normal Low U/l	42
Normal High U/l	128
Linearity Low U/l	3.2
Linearity High U/l	1080
Blank with	Reagent
Absorbance limit (max.)	1.4
Units	U/l



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА (ЩФ)

Кат.№	Название на упаковке	Фасовка
BLT00003	ЩФ АМП 150	R1: 4 x 30 мл, R2: 1 x 30 мл
BLT00004	ЩФ АМП 500	R1: 4 x 100 мл, R2: 1 x 100 мл

**Применение**

Реагент предназначен для *in vitro* диагностики щелочной фосфатазы в сыворотке и плазме.

Клиническое значение

Щелочная фосфатаза содержится в высокой концентрации в печени, в костях, плаценте, в кишечнике, злокачественных опухолях.

Норма: Физиологическое повышение щелочной фосфатазы в сыворотке бывает у беременных женщин и у растущих детей.

Повышение активности щелочной фосфатазы (при нормальной активности GGT) наблюдается при заболеваниях печени, заболеваниях костей (рахит, остеомалиция, лимфогранулематоз, саркома), при болезни Hodgkins или при закупорке и остановке сердца.

Повышение активности щелочной фосфатазы (при повышенной активности GGT) наблюдается при гепатите, циррозе, холестазах, злокачественных новообразованиях в костях и печени.

Снижение уровня наблюдается при недостаточном питании.

Принцип реакции

В соответствии с рекомендациями IFCC (Международное Общество Клинической Химии)

2-амино-2-метил-1-пропанол + пара-нитрофенилфосфат + H₂O

ЩФ

Mg²⁺/Щелочной pH → 4-нитрофенол + 2-амино-2-метил-1-пропанол фосфат

ЩФ: Щелочная Фосфатаза

Скорость образования окрашенного 4-нитрофенола пропорциональна активности щелочной фосфатазы и измеряется по изменению поглощения при 405–415 нм.

Состав реагентов**R1**

2-амино-2-метил-1-пропанол (АМП) буфер pH 10,4 434 ммоль/л

Mg ацетата 2,48 ммоль/л

Zn сульфата 1,24 ммоль/л

НЕТДА 2,48 ммоль/л

R2

p-паранитрофенилфосфат 19,5 ммоль/л

Приготовление рабочих реагентов

Реагенты R1 и R2 жидкие, готовые к использованию.

Хранение и стабильность**Двухреагентный метод – старт субстратом**

Не вскрытые реагенты (R1 и R2) стабильны до достижения указанного срока годности, если хранятся при 2–8 °C.

После вскрытия: до максимальной абсорбции рабочего реагента равной 1, при 420 нм, против дист. воды.

Монореагентный метод – старт образцом

Смешать 4 части R1 с 1 частью R2

Стабильность:

1 неделя при 15–25 °C в темном месте

4 недели при 2–8 °C в темном месте

Образцы

Сыворотка или плазма (гепарин, ЭДТА)

Исследование проводить в соответствии с протоколом NCCLS (или аналогов).

Стабильность:**В сыворотке/плазме:**

4 часа при 20–25 °C

3 дня при 4–8 °C

2 месяца при -20 °C

Допускается однократное замораживание.

Загрязненные образцы не использовать.

Калибровка

Мы рекомендуем для калибровки использовать XL МУЛЬТИКАЛ, Кат. No. XSYS0034.

Контроль качества

Для проведения контроля качества рекомендуются контрольные сыворотки: ЭРБА НОРМА, Кат. No. BLT00080, ЭРБА ПАТОЛОГИЯ, Кат. No. BLT00081.

Коэффициент пересчета

Е/л x 0,017 = мккат/л

Нормальные величины⁴

Сыворотка / Плазма	37 °C
Девочки 4 – 15 лет	54 – 369 Е/л
Женщины 20 – 50 лет	42 – 98 Е/л
≥ 60 лет	53 – 141 Е/л
Мальчики 1 – 12 лет	54 – 369 Е/л
Мужчины 20 – 50 лет	53 – 128 Е/л
≥ 60 лет	56 – 119 Е/л

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

Значения величин

Значения нормальных величин были получены на автоматических анализаторах серии ERBA XL. Результаты могут отличаться, если определение проводили на другом типе анализатора.

Рабочие характеристики

Чувствительность	3,2 Е/л
Линейность:	до 1080 Е/л
Диапазон измерений:	3,2 – 1080 Е/л
Воспроизводительность	37 °C

Внутрисерийная	N	Среднеарифметическое значение (Е/л)	SD (Е/л)	CV (%)
Образец 1	20	297,6	2,58	0,87
Образец 2	20	460,8	4,92	1,07

Межсерийная	N	Среднеарифметическое значение (Е/л)	SD (Е/л)	CV (%)
Образец 1	20	62,4	1,68	2,68
Образец 2	20	191,4	5,10	2,66

Сравнение методов

Сравнение было проведено на 40 образцах с использованием реагентов серии БЛТ: ЩФ(y) и имеющихся в продаже реагентов с коммерчески доступной методикой (x).

Результаты: y = 0,947 x - 3,60 Е/л r = 0,996

Специфичность / Влияющие вещества

Гемоглобин до 5 г/дл, билирубин до 40 мг/дл и триглицериды до 2000 мг/дл не влияют на результаты анализа.

Предупреждения и меры предосторожности

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

Набор реагентов содержит 0,1% азиды натрия – классифицируется как токсичное и опасное вещество для окружающей среды. Реагент R2 также содержит <0,7% КОН и классифицируется как раздражитель.



Предупреждение

Обозначение опасности:

H315 Вызывает раздражение кожи.

H319 Вызывает серьезное раздражение глаз.

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.

Утилизация использованных материалов

В соответствии с существующими в каждой стране правилами для данного вида материала.

Проведение анализа

Длина волны: 420 (405-430) нм

Оптический путь: 1 см

Температура: 37 °C

Двухреагентный метод – старт субстратом

Образец / Калибратор	0,020 мл
Реагент 1 (буфер)	0,800 мл
Смешать, инкубировать 5 мин. при 37 °C, добавить	
Реагент 2 (субстрат)	0,200 мл

Смешать, инкубировать 1 мин при 37 °C, измерить поглощение Аст/обр. против реагента бланк. Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 минуты. Рассчитайте среднее изменение поглощения в минуту (ΔA).

Монореагентный метод – старт образцом

Образец / Калибратор	0,020 мл
Рабочий раствор	1,000 мл

Смешать, инкубировать 1 мин при 37 °C, измерить поглощение Аст/обр. против реагента бланк. Измерить поглощение точно через 1, 2 и 3 минуты. Рассчитайте среднее изменение поглощения в минуту (ΔA).

Расчеты

Рассчитайте активность ЩФ в пробе, используя

1. Калибратор

$$\text{ЩФ (Е/л)} = C_{\text{кал}} \times \frac{\Delta A_{\text{обр}}}{\Delta A_{\text{кал}}} \quad C_{\text{кал}} - \text{активность ЩФ в калибраторе}$$

2. Факторы:

$$\text{ЩФ (Е/л)} = \Phi \times \Delta A / \text{мин}$$

Φ – фактор пересчета = 2764 (при 405 нм)

Протоколы для использования на автоматических анализаторах могут быть получены по запросу.

Параметры для проведения анализа на полуавтоматическом анализаторе

Метод	Кинетика
Длина волны 1 (нм)	405
Объем образца (мкл)	10/20
Объем реагента (мкл)	500/1000
Задержка (Сек.)	60
Интервал измерения (Сек.)	60
Кол-во замеров	3
Фактор	2764
Температура реакции (°C)	37
Направление реакции	Увеличение
Нижний предел нормы (Е/л)	42
Верхний предел нормы (Е/л)	128
Нижний предел линейности (Е/л)	3,2
Верхний предел линейности (Е/л)	1080
Мин. Начальное поглощение	1,4
Бланк	Реагент
Единицы	Е/л

ALKALINE PHOSPHATASE

Kat. č.	Název balení	Obsah balení
BLT00003	ALP AMP 150	R1: 4 x 30 ml, R2: 1 x 30 ml
BLT00004	ALP AMP 500	R1: 4 x 100 ml, R2: 1 x 100 ml



POUŽITÍ

Diagnostická souprava pro kvantitativní *in vitro* stanovení katalytické koncentrace ALP (alkalické fosfatasy) v séru a plazmě.

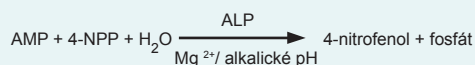
KLINICKÝ VÝZNAM

Lidská ALP představuje skupinu hydrolytických enzymů působících při alkalickém pH. Vyskytuje se prakticky ve všech tkáních, ve vysokých koncentracích v osteoblastech, játrech, placentě, ledvinách, ve střevech a mléčných žlázách. Fyziologické zvýšení katalytické koncentrace ALP se vyskytuje u dětí a adolescentů při růstu kostí a během těhotenství.

Zvýšené hladiny ALP často souvisí s onemocněním kostí nebo jater, včetně žlučového traktu. Zvýšená činnost ALP je také pozorována u všech forem cholestázy, u Pagetovy choroby, hyperparathyreoidismu, křivice, osteomalacie či kostních tumorů.

PRINCIP METODY

Toto metoda vychází z doporučení IFCC



Alkalická fosfatasa (alkalická fosforylhydrolasa 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.

SLOŽENÍ ČINIDEL

R1 ČINIDLO	
AMP pufr (pH 10,4)	434 mmol/l
Octan hořečnatý	2,48 mmol/l
Síran zinečnatý	1,24 mmol/l
HEDTA	2,48 mmol/l

R2 ČINIDLO	
4-nitrofenylfosfát	19,5 mmol/l

SLOŽENÍ REAKČNÍ SMĚSI

AMP pufr (pH 10,4)	340 mmol/l
Octan hořečnatý	1,95 mmol/l
Síran zinečnatý	0,97 mmol/l
HEDTA	1,95 mmol/l
4-nitrofenylfosfát	3,82 mmol/l

PŘÍPRAVA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Činidla jsou kapalná, připravená k použití.

SKLADOVÁNÍ A STABILITA PRACOVNÍCH ROZTOKŮ

Dvoureagenční metoda – start substrátem

Činidla R1 a R2 jsou kapalná a určená k přímému použití. Pokud jsou činidla skladována před i po otevření při 2–8 °C a chráněna před světlem a kontaminací, jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu.

Jednoreagenční metoda – start vzorkem

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

Stabilita: 1 týden při 15–25 °C v temnu
4 týdny při 2–8 °C v temnu

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

VZORKY

Sérum, plazma (EDTA, heparin).

Doporučujeme postupovat dle NCCLS (nebo podobných standardů).

Stabilita ALP v séru, plazmě:

4 hodiny při 20–25 °C

3 dny při 4–8 °C

2 měsíce při –20 °C

Nepoužívejte kontaminované vzorky.

KALIBRACE

Ke kalibraci se doporučuje Lyonorm Kalibrátor, kat. č. BLT00069.

KONTROLA KVALITY

Ke kontrole se doporučuje Lyonorm HUM N, kat. č. BLT00070 a Lyonorm HUM P, kat. č. BLT00071.

PŘEPOČET JEDNOTEK

U/l x 0,017 = μ kat/l

REFERENČNÍ HODNOTY ⁴

fS ALP (μ 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

Výkonnostní charakteristiky byly získány na automatických analyzátoch ERBA XL.

Data získaná ve vaší laboratoři se mohou od těchto hodnot lišit.

Dolní mez stanovitelnosti: 0,053 μ kat/l

Linearita: do 18 μ kat/l

Pracovní rozsah: 0,053 – 18 μ kat/l

PŘESNOST

Intra-assay (n=20)	Průměr (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorek 1	4,96	0,043	0,87
Vzorek 2	7,68	0,082	1,07

Inter-assay (n=20)	Průměr (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorek 1	1,04	0,028	2,68
Vzorek 2	3,19	0,085	2,66

SROVNÁNÍ S KOMERČNĚ DOSTUPNOU METODOU

Lineární regrese:

N = 40

r = 0,996

y = 0,947 x – 0,060 μ kat/l

INTERFERENCE

Následující analyty neinterferují:

hemoglobin do 5 g/l, bilirubin do 40 mg/dl, triglyceridy do 2000 mg/dl

BEZPEČNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Určeno pro *in vitro* diagnostické použití oprávněnou a odborně způsobilou osobou. Činidla soupravy obsahují méně než 0,1 % azidu sodného, který je klasifikovaný jako velmi toxický a nebezpečný pro životní prostředí. Činidlo R2 obsahuje <0,7% žíravého hydroxidu draselného a je klasifikované jako dráždivé.



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 KÚŽÍ: 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 vniknutí do oka provést rychlý a důkladný výplach proudem čisté vody. Při potřísnění omýt pokožku teplou vodou a mýdlem. Ve vážných případech poškození zdraví vyhledat lékařskou pomoc.

NAKLÁDÁNÍ S ODPADY

Na všechny zpracované vzorky je nutno pohlížet jako na potencionálně 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).

POSTUP MĚŘENÍ

Vlnová délka	420 (405 – 430) nm
Kyveta	1 cm
Teplota	37 °C
Objemový poměr sérum/reakční směs	1/51

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

Dvoureagenční metoda – start substrátem

	Reagenční blank	Kalibrátor	Vzorek
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorek	-	-	0,020 ml
Kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-

Promíchá se a po inkubaci 5 min (37 °C) se přidá:

Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
-----------	----------	----------	----------

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

VÝPOČET

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

C_{kal} = koncentrace kalibrátoru

Aplikace na automatické analyzátoři jsou dodávány na vyžádání.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

ALKALINE PHOSPHATASE

Kat. č.	Názov balenia	Obsah balenia
BLT00003	ALP AMP 150	R1: 4 x 30 ml, R2: 1 x 30 ml
BLT00004	ALP AMP 500	R1: 4 x 100 ml, R2: 1 x 100 ml

SK



POUŽITIE

Diagnostická súprava na kvantitatívne *in vitro* stanovenie katalytickej koncentrácie ALP (alkalickej fosfatázy) v sére a plazme.

KLINICKÝ VÝZNAM

Ludská ALP predstavuje skupinu hydrolytických enzýmov pôsobiacich pri alkalickom pH. Vyskytuje sa prakticky vo všetkých tkanivách, vo vysokých koncentráciách v osteoblastoch, pečeni, placente, obličkách, v črevách a mliečnych žľazách. Fyziologické zvýšenie katalytickej koncentrácie ALP sa vyskytuje u detí a adolescentov pri raste kostí a behom tehotenstva.

Zvýšené hladiny ALP často súvisia s ochorením kostí alebo pečene vrátane žilového traktu. Zvýšená činnosť ALP je tiež pozorovaná u všetkých foriem cholestázy, u Pagetovej choroby, hyperparathyreoidizmu, krivice, osteomalácie či kostných tumoroch.

PRINCÍP METÓDY

Táto metóda vychádza z doporučeného IFCC



Alkalická fosfatáza (alkalická fosfhydroláza 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.

ZLOŽENIE ČINIDIEL

R1 ČINIDLO	
AMP pufer (pH 10,4)	434 mmol/l
Octan horečnatý	2,48 mmol/l
Síran zinočnatý	1,24 mmol/l
HEDTA	2,48 mmol/l

R2 ČINIDLO	
4-nitrofenylfosfát	19,5 mmol/l

ZLOŽENIE REAKČNEJ ZMESI

AMP pufer (pH 10,4)	340 mmol/l
Octan horečnatý	1,95 mmol/l
Síran zinočnatý	0,97 mmol/l
HEDTA	1,95 mmol/l
4-nitrofenylfosfát	3,82 mmol/l

PRÍPRAVA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Činidlá sú kvapalné, pripravené na použitie.

SKLADOVANIE A STABILITA PRACOVNÝCH ROZTOKOV

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

Činidlá R1 a R2 sú kvapalné a určené na priame použitie. Ak sú skladované pred i po otvorení pri 2–8 °C a chránené pred svetlom a kontamináciou, sú stabilné do dátumu expirácie uvedeného na štítku.

Jednoreagenčná metóda – štart vzorkou

Pracovný roztok sa pripraví zmiešaním 4 dielov činidla R1 s 1 dielom činidla R2. Stabilita: 1 týždeň pri 15–25 °C v tme
4 týždne pri 2–8 °C v tme

Maximálne prípustná absorbancia pracovného roztoku je 1,0 pri 420 nm oproti destilovanej vode.

VZORKY

Sérum, plazma (EDTA, heparín).

Doporučujeme postupovať podľa NCCLS (alebo podobných štandardov).

Stabilita ALP v sére, plazme:

4 hodiny pri 20–25 °C

3 dni pri 4–8 °C

2 mesiace pri -20 °C

Nepoužívajte kontaminované vzorky.

KALIBRÁCIA

Na kalibráciu sa doporučuje Lyonorm Kalibrátor, kat. č. BLT00069.

KONTROLA KVALITY

Na kontrolu sa doporučuje Lyonorm HUM N, kat. č. BLT00070 a Lyonorm HUM P, kat. č. BLT00071.

PREPOČET JEDNOTIEK

U/l x 0,017 = μ kat/l

REFERENČNÉ HODNOTY⁴

fS ALP (μ 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, doporučuje sa, aby si každé laboratórium overilo rozsah referenčného intervalu pre populáciu, pre ktorú zabezpečuje laboratórne vyšetrenie.

VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Výkonnostné charakteristiky boli získané na automatických analyzátoroch ERBA XL. Údaje získané vo vašom laboratóriu sa môžu od týchto hodnôt líšiť.

Dolná meja stanoviteľnosti: 0,053 μ kat/l

Linearita: do 18 μ kat/l

Pracovný rozsah: 0,053 – 18 μ kat/l

PRESNOSŤ

Intra-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	4,96	0,043	0,87
Vzorka 2	7,68	0,082	1,07

Inter-assay (n=20)	Priemer (μ kat/l)	SD (μ kat/l)	CV (%)
Vzorka 1	1,04	0,028	2,68
Vzorka 2	3,19	0,085	2,66

POROVNANIE S KOMERČNE DOSTUPNOU METÓDOU

Lineárna regresia:

N = 40

r = 0,996

y = 0,947 x – 0,060 μ kat/l

INTERFERENCIE

Nasledujúce analyty neinterferujú:

hemoglobín do 5 g/l, bilirubin do 40 mg/dl, triglyceridy do 2000 mg/dl

BEZPEČNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Určené na *in vitro* diagnostické použitie oprávnenou a odborne spôsobilou osobou. Činidlá súpravy obsahujú menej než 0,1 % azidu sodného, ktorý je klasifikovaný ako veľmi toxický a nebezpečný pre životné prostredie. Činidlo R2 obsahuje <0,7% žieravého hydroxidu draselného a je klasifikované ako dráždivé.



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 vniknutí do oka vykonať rýchly a dôkladný výplach prúdom čistej vody. Pri postriekaní umyť pokožku teplou vodou a mydlom. Vo vážnych prípadoch poškodenia zdravia vyhľadajte lekársku pomoc.

NAKLADANIE S ODPADMI

Všetky spracované vzorky je nutné považovať ako potenciálne infekčné a spolu s prípadnými zvyškami činidiel ich likvidovať podľa vlastných interných predpisov ako nebezpečný odpad v súlade so Zákonom o odpadoch.

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

POSTUP MERANIA

Vlnová dĺžka	420 (405 – 430) nm
Kyveta	1 cm
Teplota	37 °C
Objemový pomer sérum/reakčná zmes	1/51

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

Dvojreagenčná metóda – štart substrátom

	Reagenčný blank	Kalibrátor	Vzorka
Činidlo 1	0,800 ml	0,800 ml	0,800 ml
Vzorka	-	-	0,020 ml
Kalibrátor	-	0,020 ml	-
Destilovaná voda	0,020 ml	-	-

Premieša sa a po inkubácii 5 min (37 °C) sa pridá:

Činidlo 2	0,200 ml	0,200 ml	0,200 ml
-----------	----------	----------	----------

Premieša sa, inkubuje sa 1 minútu pri 37 °C a potom sa odmeria absorbancia vzorky (ΔA_{vz}) a kalibrátora (ΔA_{kal}) oproti reagenčnému blanku v jednonútových intervaloch po dobu 3 minút. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie ΔA 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 potom sa odmeria absorbancia vzorky (ΔA_{vz}) a kalibrátora (ΔA_{kal}) oproti reagenčnému blanku v jednonútových intervaloch po dobu 3 minút. Vypočíta sa priemerná zmena absorbancie ΔA za 1 minútu ($\Delta A/\text{min}$).

VÝPOČET

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

C_{kal} = koncentrácia kalibrátora

Aplikácie na automatické analyzátory sú dodávané na vyžiadanie.



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

FOSFATASA ALCALINA

Catalogo. No.	Nombre del paquete	Presentación (contenido)
BLT00003	ALP AMP 150	R1: 4 x 30 ml, R2: 1 x 30 ml
BLT00004	ALP AMP 500	R1: 4 x 100 ml, R2: 1 x 100 ml

ES

CE

IVD

USO PREVISTO

Reactivo de diagnóstico *in vitro* cuantitativo para la determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina en suero o plasma humano.

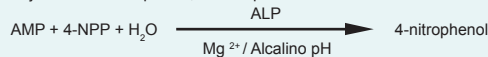
SIGNIFICADO CLÍNICO

ALP humana consiste en un grupo de enzimas que hidrolizan los fosfatos a un pH alcalino. ALP se encuentra en prácticamente todos los tejidos del cuerpo pero en altas concentraciones en los osteoblastos del hueso, hígado, placenta, riñón, pared intestinal y glándulas mamarias lactantes. En los adultos la ALP que se encuentra normalmente circulando en el suero se deriva en gran parte del hígado. En los niños o adolescentes, pasando por el desarrollo puberal, hay un aporte adicional de hueso y esto representa un mayor rango de referencia para estos grupos. El embarazo también eleva los valores normales de fosfatasa alcalina. Niveles elevados de ALP a menudo se observan en la enfermedad ósea o enfermedad del hígado que involucra el tracto biliar. Si la fuente de la isoenzima no es evidente entonces la medición de GGT puede ayudar a distinguir entre las dos. Una GGT elevada en presencia de ALP elevada sugeriría que el hígado es la fuente principal.

Aumento ALP (generalmente normal GGT) se observa en la Osteomalacia y raquitismo, hiperparatiroidismo primario que involucra el hueso, enfermedad de Paget, carcinoma secundario en hueso y en algunos casos de sarcoma osteogénico. El Niveles elevados de fosfatasa alcalina (generalmente con una elevada GGT) se observan en la colestasis, hepatitis, cirrosis, lesiones localizadas y procesos malignos que involucran hueso o hígado. Bajos niveles de fosfatasa alcalina pueden observarse en condiciones que causan el crecimiento óseo o en Hipofosfatasia.

PRINCIPIO

El método según recomendación de IFCC. Este método utiliza 4-nitrofenil fosfato como sustrato. Bajo condiciones óptimas, la ALP presente en la muestra cataliza la siguiente reacción:



4-nitrofenol tiene un color amarillo intenso al tener el pH de la reacción. El reactivo contiene también un sistema de buffer de iones metálicos para asegurar que se mantenga la concentración óptima de magnesio y Zinc. El búfer de iones metálicos también puede quelatar otros iones potencialmente inhibitorios que pueden estar presentes. La reacción se monitorea midiendo el aumento en la tasa de absorbancia a 405 o 415 nm y la cual es proporcional a la actividad de fosfatasa alcalina en suero.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

R1

Tampón de AMP, pH 10.4	434 mmol/l
Magnesio acetato	2.48 mmol/l
Mmol/l de sulfato de cinc	1.24 mmol/l
HEDTA	2.48 mmol/l

R2

p-nitrofenil fosfato	19.5 mmol/l
----------------------	-------------

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivo líquido, listo para usar.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Los reactivos sin abrir son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella y el estuche cuando se almacena a 2–8°C.

Método de dos reactivos – inicio de sustrato

Reactivos están listos para usar. Después de abrir, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad de 2 a 8°C si está almacenado en condiciones apropiadas, tapado cuidadosamente y sin ninguna contaminación.

La absorbancia máxima permisible del reactivo de trabajo medido a 420 nm frente agua destilada es 1.0.

Método de Monoreactivo – inicio de la muestra

Mezcle 4 partes del reactivo R1 con 1 parte del reactivo R2.

Estabilidad:	1 semana	de 15–25°C en la oscuridad
	4 semanas	de 2–8°C en la oscuridad

MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Use suero, plasma (heparina, EDTA).

Se recomienda seguir los procedimientos de NCCLS (o similares condiciones estandarizadas).

Estabilidad en suero / plasma: 4 horas a 20–25°C
3 días a 4–8°C
2 meses a -20°C

Deseche las muestras contaminadas.

CALIBRACIÓN

Se recomienda calibración con calibrador XL MULTICAL, Cat. No. XSYS0034.

CONTROL DE CALIDAD

Para el Control de Calidad se recomienda ERBA NORM, Cat. No. BLT00080 y ERBA PATH, Cat. No. BLT00081.

CONVERSIÓN DE UNIDADES

U/l x 0.017 = µkat/l

VALORES ESPERADOS⁴

a 37°C

Mujeres: 4-15 años: 54-369 U/l

20-50 años: 42-98 U/l

≥ 60 años: 53-141 U/l

Hombres: 1-12 años: 54-369 U/l

20-50 años: 53-128 U/l

≥ 60 años: 56-119 U/l

Se recomienda que cada laboratorio verifique o derive un intervalo de referencia para la población que evalúa.

DATOS DE DESEMPEÑO

Los datos dentro de esta sección son representativos del desempeño en los sistemas ERBA XL. Los datos obtenidos en su laboratorio pueden diferir de estos valores.

Límite de cuantificación: 3.2 U/l

Linealidad: 1080 U/l

Rango de medición: 3.2 – 1080 U/l

Precisión intraensayo Promedio (n = 20)	Media (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Muestra 1	297.6	2.58	0.87
Muestra 2	460.8	4.92	1.07

Precisión inter-ensayo Promedio (n = 20)	Media (U/l)	SD (U/l)	CV (%)
Muestra 1	62.4	1.68	2.68
Muestra 2	191.4	5.10	2.66

COMPARACIÓN

Una comparación entre fosfatasa alcalina de los sistemas XL (y) y una prueba disponible comercialmente (x) usando 40 muestras dio los siguientes resultados:

y = 0.947 x - 3.60 U/l

r = 0.996

INTERFERENCIAS

Las sustancias siguientes no interfieren:

Hemoglobina hasta 5 g/l, bilirrubina hasta 40 mg/dl, triglicéridos hasta 2000 mg/dl.

WARNING AND PRECAUTIONS

Para uso de diagnóstico *in vitro*. Para ser manejado por persona titulada y educada profesionalmente.

Los reactivos del estuche contienen menos del 0.1% de azida sódica - clasificada como sustancia muy tóxica y peligrosa para el medio ambiente. Reactivo R2 también contiene <0.7% KOH y está clasificado como irritante.



Atención

Indicación de peligro:

H315 Provoca irritación cutánea

H319 Provoca irritación ocular grave

Consejo de prudencia:

P280 Usar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos.

P302+P352 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante agua.

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

MANEJO DE RESIDUOS

Por favor consulte los requisitos legales locales.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Longitud de onda: 420 (405 – 430) nm

Cubeta: 1 cm

Método de dos reactivos - Inicio de sustrato

	Blanco de Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo 1	0.800 ml	0.800 ml	0.800 ml
Muestra	-	-	0.020 ml
Calibrador	-	0.020 ml	-
Agua destilada	0.020 ml	-	-

Mezclar y añadir después de la incubación de 5 minutos (a 37°C) agregar:

Reactivo 2	0.200 ml	0.200 ml	0.200 ml
------------	----------	----------	----------

Mezclar, incubar 1 min a 37°C y luego medir la absorbancia inicial del calibrador y la muestra contra el blanco del reactivo. Medir el cambio de absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 min. Calcular el cambio de absorbancia en 1 minuto (ΔA/min).

Método de Mono reactivo - Inicio de la muestra

	Blanco de Reactivo	Calibrador	Muestra
Reactivo de trabajo	1.000 ml	1.000 ml	1.000 ml
Muestra	-	-	0.020 ml
Calibrador	-	0.020 ml	-
Agua destilada	0.020 ml	-	-

Mezclar, incubar 1 min a 37°C y luego medir la absorbancia inicial del calibrador y la muestra contra el blanco del reactivo. Medir el cambio de absorbancia exactamente después de 1, 2 y 3 min. Calcular el cambio de absorbancia en 1 minuto (ΔA/min).

CÁLCULO

$$1. \text{ALP (U/l)} = \frac{\Delta A_{\text{sam}} / \text{min.}}{\Delta A_{\text{cal}} / \text{min.}} \times C_{\text{cal}} \quad C_{\text{cal}} = \text{concentración del calibrador}$$

2. usando el factor:

ALP (U/l) = f x ΔA/min

f = factor f = 2764 (a 405 nm)

Aplicaciones para analizadores automáticos están disponibles a solicitud.

PARÁMETROS DE ENSAYO PARA FOTÓMETROS

Modo	Cinética
Longitud de onda (nm)	405
Volumen de muestra (µl)	10/20
Reactivo de trabajo volumen (µl)	500/1000
Tiempo de espera (seg.)	60
Intervalo cinético (seg.)	60
No. de lecturas	3
Factor cinético	2764
Temperatura (°C) de la reacción	37
Dirección de la reacción	Aumento
Normal bajo U/l	42
Normal alto U/l	128
Linealidad baja U/l	3.2
Linealidad alta U/l	1080
Blanco con	Reactivo
Límite de absorbancia (máximo)	1.4
Unidades	U/l



Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА / LITERATURA / LITERATÚRA / REFERENCIAS

1. Zilva JF, Pannall PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd London 1979: Chapter 15 : 343.
2. IFCC method for the measurement of ALP J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1983: 21: 731-48.
3. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990 : 3 : 19-25.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E.; 5th edition, WB Saunders Comp., 2012.
5. Kaplan and Pesce (Eds.) Clinical Chemistry, Theory analysis and correlation. Second Edition. CV Mosby Co. 1989.

SYMBOLS USED ON LABELS / СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ / SYMBOLY, POUŽITÉ NA ETIKETÁCH / SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LAS ETIQUETAS

 REF	Catalogue Number Katalogové číslo Katalógové číslo Número catálogo Code de Catalogue Código de Catálogo	 Manufacturer Výrobce Уробца Производитель Fabriqué par... Fabricado por...	 See Instruction for Use Čtěte návod k použití Čítajte návod k použitiu Перед использованием Внимательно изучайте инструкцию Lire les Instructions avant l'Utilisation Ver Instrucciones Para su Uso
 LOT	Lot Number Číslo šarže Número партии Numéro de Lot Número de Lote	 CE Mark - Device comply with the Directive 98/79/EC Знак CE - соответствие Директиве 98/79/EC	 Storage Temperature Teplota skladování Teplota skladovania Температура хранения Limites de Température Rango de Temperatura
	Expiry Date Datum expirace Datum expirácie Срок годности Date d'Expiration Fecha de Vencimiento	 IVD In Vitro Diagnostics In vitro Diagnostikum Ин витро диагностика Trousse Médicale Diagnostique in Vitro Dispositivo Médico para Diagnóstico in Vitro Solamente	 CONT Content / Obsah / Содержание Contenus / Contenido  Национальный знак соответствия для Украины Ukrainian quality mark

QUALITY SYSTEM CERTIFIED
ISO 9001 ISO 13485

 Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbalachema.com, www.erbamannheim.com