



ALKALICKÁ FOSFATÁZA (ALP) - AMP



KÓD 11 592	KÓD 11 593	KÓD 11 598
50 mL	200 mL	500 mL
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C		
Reagenty pro měření koncentrace ALP Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku laboratoru		

ALKALICKÁ FOSFATÁZA (ALP) - AMP kinetika - spektrofotometrie

2-AMINO-2-METYL-1-PROPANOL PUFR (IFCC)

PRINCIP METODY

Alkalická fosfatáza (ALP) katalyzuje v alkalickém prostředí přenos fosfátové skupiny z 4-nitrofenylfosfátu na dietanolamin (AMP) za vzniku 4-nitrofenolu. Katalytická koncentrace se určuje jako míra vzniku 4-nitrofenolu, který se měří při 405 nm¹.



Obsah

	KÓD 11 592	KÓD 11 593	KÓD 11 598
A. Reagent	1 x 40 mL	1 x 160 mL	4 x 100 mL
B. Reagent	1 x 10 mL	1 x 40 mL	2 x 50 mL

Složení

A. Reagent: 2-Amino-2-metyl-1-propanol 0,4 mol/L, síran zinečnatý 1,2 mmol/L, N-hydroxyetyletyldiaminotrioxová kyselina 2,5 mmol/L, octan hořečnatý 2,5 mmol/L, pH 10,4.

B. Reagent: 4-Nitrofenylfosfát 60 mmol/L

SKLADOVÁNÍ

Skladujte při 2-8°C.

Reagenty jsou stabilní do data expirace uvedeném na štítku, pokud jsou těsně uzavřené a je zabráněno jejich kontaminaci během jejich použití.

Známky zhoršení kvality:

Reagent: přítomnost částic, zákal, absorbance blanku větší jak 1,200 při 405 nm (měřeno v 1 cm kyvetě).

Příprava reagentů

Pracovní reagent:

Kód 11592 a 11593: Kvantitativně přeneste obsah lahvičky B do lahvičky A. Dobře promíchejte. Ostatní objemy můžete připravit v poměru: 4 ml reagentu A + 1 ml reagentu B. Stabilita je 2 měsíce při 2-8°C.

Kód 11598: Kvantitativně přeneste 25 ml reagentu B do jedné lahvičky A. Dobře promíchejte. Ostatní objemy můžete připravit v poměru: 4 ml reagentu A + 1 ml reagentu B. Stabilita je 2 měsíce při 2-8°C.

Přídavná zařízení

■ Analyzátor, spektrofotometr nebo fotometr, termostabilní při 25, 30 nebo 37°C a s filtrem 405 nm.

Vzorky

Serum, nebo plazma odebraná standardním způsobem. Alkalická fosfatáza je ve vzorku stabilní 7 dní při 2-8°C. Heparin může být použit jako antikoagulant.

Postup

- Vytemperujte pracovní reagent a fotometr na pracovní teplotu
- Pipetujte do označených zkumavek: (Poznámka 1)

Pracovní Reagent	1,0 mL
Vzorek	20 µL

- Promíchejte, nasajte do kyvety fotometru a zapněte stopky.
- Změřte počáteční absorbanci a pak jí odečítejte v minutových intervalech po dobu 3 minut.
- Vypočítejte rozdíl mezi následnými absorbancemi a průměrnou minutovou absorbancí ($\Delta A/\text{min}$).

Výpočet

Koncentrace ALP ve vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{Vt \times 10^6}{\epsilon \times l \times Vs} = U/L$$

Molární absorbance (ϵ) 4-nitrofenolu při 405 nm je 18450, světelná dráha kyvety (l) je 1 cm, celkový reakční objem (Vt) je 1,02 a objem vzorku (Vs) je 0,02 a 1 U/L

odpovídá 0,0166 $\mu\text{kat/L}$. Následující rovnice je pro výpočet katalytické koncentrace ALP:

$$\Delta A/\text{min} \times 2.764 = U/L$$

$$\Delta A/\text{min} \times 46,08 = \mu\text{kat/L}$$

Referenční hodnoty

Reakční teplota	muži	ženy
Do 25°C	75 U/L = 1,25 $\mu\text{Kat/L}$	68 U/L = 1,13 $\mu\text{Kat/L}$
Do 30°C	87 U/L = 1,45 $\mu\text{Kat/L}$	80 U/L = 1,33 $\mu\text{Kat/L}$
Do 37°C	115 U/L = 1,92 $\mu\text{Kat/L}$	105 U/L = 1,75 $\mu\text{Kat/L}$

Hodnoty při 25°C byly získány přepočtem z hodnot naměřených při 30°C. Koncentrace u dospívajících dětí jsou vyšší a více variabilní. Tyto hodnoty jsou pouze orientační. Každá laboratoř by si měla stanovit své vlastní srovnávací hodnoty.

Kontrola kvality:

Pro ověření správnosti měření se doporučuje použít biochemické kontrolní sérum hladiny I (kód. 18005, 18009 a 18042) a hladiny II (kód. 18007, 18010 a 18043). Každá laboratoř by si měla stanovit svoji vlastní vnitřní kontrolu kvality a postupy pro nápravná jednání, jestliže kontroly nejsou v tolerančním rozpětí.

Metrologická charakteristika

- Detekční limit: 1,0 U/L = 0,017 $\mu\text{kat/L}$
- Linearita: 1.200 U/L = 20 $\mu\text{kat/L}$. Při vyšších hodnotách zředte vzorek 1/2 destilovanou vodou a opakujte měření.
- Opakovatelnost (within run):

Průměrná koncentrace	CV	n
61 U/L = 1,02 $\mu\text{kat/L}$	1,0 %	20
244 U/L = 4,07 $\mu\text{kat/L}$	0,7 %	20

- Reprodukovatelnost (run to run):

Průměrná koncentrace	CV	n
61 U/L = 1,02 $\mu\text{kat/L}$	3,4 %	25
244 U/L = 4,07 $\mu\text{kat/L}$	1,1 %	25

- Správnost: Výsledky získané touto soupravou nevykazovaly systematické rozdíly při porovnání s referenčními reagenty. Podrobnosti o porovnávací zkoušce jsou k dispozici na vyžádání.
 - Interference: Lipemie (triglyceridy < 10 g/l) a bilirubin (< 20 mg/dl) neinterferují. Hemoglobin (>2,5 g/l) interferuje. Některé léky a látky mohou interferovat³.
- Tyto metrologické charakteristiky byly získány na analyzátoru. Výsledky se mohou lišit při použití různých analyzátorů, nebo při manuální metodě.

Diagnostická charakteristika

Alkalická fosfatáza katalyzuje hydrolyzu organických monoesterů fosfátu v alkalickém pH. Tento enzym je přítomen prakticky ve všech tkáních těla, speciálně v buňkách a nebo buněčných membránách a vyskytuje se částečně v poměrně vysoké koncentraci v placentě, intestinálním epitelu, v ledvinových tubulech, osteoblastech a v játrech.

Sérová ALP u dospělé populace se vytváří hlavně v játrech a kostech. Zvýšení sérové ALP lze najít u pacientů s kostním onemocněním, které je asociováno zvýšenou osteoblastickou aktivitou (Pagetova choroba, primární a sekundární hyperparatyroidismus, kostní nádory, křivice, osteomalácie, fraktury kostí) a také u pacientů s hepatobiliárním onemocněním (obstrukční žloutenka, hepatitida, hepatotoxicita způsobena drogami, nádorem jater). Fyziologické změny takové jako je např. růst kostí a těhotenství mohou způsobit zvýšenou hladinu ALP^{4,5}.

Klinická diagnóza by však neměla být uzavřena jen na základě tohoto výsledku, ale měly by být propojeny klinické a laboratorní výsledky.



ALKALICKÁ FOSFATÁZA (ALP) - AMP



KÓD 11 592	KÓD 11 593	KÓD 11 598
50 mL	200 mL	500 mL
SKLADOVÁNÍ PŘI 2-8°C		
Reagenty pro měření koncentrace ALP Pouze pro laboratorní <i>in vitro</i> diagnostiku laboratoru		

ALKALICKÁ FOSFATÁZA (ALP) - AMP

kinetika - spektrofotometrie

2-AMINO-2-METYL-1-PROPANOL PUFR (IFCC)

POZNÁMKA

1. Tento reagent může být použitý v různých analyzátoch. Aplikační protokoly jsou k dispozici na vyžádání u distributora.

LITERATURA

1. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic concentration of enzymes at 37°C. Part 9: Reference procedures 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. WB Saunders Co., 2005.

UPOZORNĚNÍ

Překlad revidován k datu: 25.5.2015.

Vzhledem k možné inovaci výrobku Vám doporučujeme překontrolovat český překlad s originálním příbalovým letákem porovnáním podle identifikačního čísla návodu uvedeném v zápatí.

Originální návod najdete v soupravě a na internetové adrese: www.biosystems-sa.com.

Český návod je k dispozici na: www.jktrading.cz

Výhradní distributor:

ČR : JK-Trading spol.s.r.o., Křivatcová 421/5,150 21 Praha5, tel.: +420 257 220 760

SK : JK-Trading spol.s.r.o., Mečíkova 30, 841 07 Bratislava, tel.: + 421 264 774 591

V případě mimořádných událostí:

ČR : Toxikologické informační středisko (TIS), klinika pracovního lékařství VFN a . LF UK,

tel.: +420 224 91 92 93 a +420 224 91 54 02

SK : Toxikologické informačné centrum Bratislava, 833 05, Limbová 5, tel.: +421 254 774 166

VÝROBCE

BioSystems S.A. Costa Brava 30, Barcelona (Spain)
ISO 13485 - TÜV Rheinland - Reg.: SX 60010383 0001
ISO 9001 - TÜV CERT - Reg.: 01 100 6696