

ALCALIN FOSFATAZA BR

DGKC

Metoda colorimetrica

CINETIC

Numai pentru utilizarea *in vitro*

CONTINUT

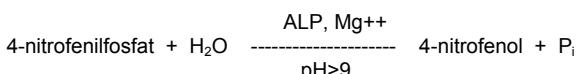
1103005	Alcalin Fosfataza BR	2 x 50 mL
1103010	Alcalin fosfataza BR	3 x 100 mL

REF

PRINCIPIUL METODEI

Alcalin fosfataza (ALP) catalizeaza hidroliza 4-nitrofenilfosfatului (4-NPP) cu formarea de 4-nitrofenol si fosfat inorganic liber, activand solutia-tampon alcalina ca acceptor grup-fosfat.

Reactia este monitorizata cinetic la 405 nm de catre rata de formare a 4-nitrofenol, proportional cu activitatea ALP-ului prezent in proba.



Metoda urmareste formula optima propusa a DGKC-ului.

CONSTITUENTI SI COMPOZITIE

R1 Solutie tampon ALP. Solutie tampon DEA 1.25 mol/L pH 10.2, clorid de magneziu 0.6 mmol/L. Biocide.

R2 Substrat ALP. 4-NPP 50 mmol/L. Biocide.

CONSERVARE SI STABILITATE

Se pastreaza la temperaturi de 2-8°C.

Reactivii sunt stabili pana la data de valabilitate inscrisa pe eticheta.

PREPARAREA REACTIVULUI

Reactiv de lucru. Amestecati 4 mL de R1 cu 1 mL de R2. Este stabila timp de 5 zile la o temperatura de 20-25°C sau timp de 30 de zile la o temperatura de 2-8°C. Feriti de lumina.

Aruncati reactivul in cazul in care blancul prezinta o absorbanta mai mare de 0.800 la 405 nm fata de blancul facut faat de apa distilata sau nu ofera rezultatele asteptate cand se lucreaza cu serum de control.

PROBE

Serul sau plasma heparinizata, nehemolizata. Alti anticoagulanti cum ar fi EDTA, oxalat si citrati inhiba enzima prin formarea complexului de Mg⁺⁺ si trebuie utilizati.

INTERFERENTE

- Bilirubina (>20 mg/dL) si trigliceridele (>10 g/L) nu intervin
- O lista de droguri si substante, ce pot cauza modificarile in nivelul de ALP sau intervin in masurarea acestuia, a fost facuta publica

MATERIALE DE LUCRU

- Fotometru sau spectrofotometru cu celula de citire termostata la 25/30/37°C, capabil sa citeasca la 405 nm
- Ceas de laborator
- Cuvete cu drum optic de 1 cm
- Pipete pentru masurarea reactivilor si probelor

METODA DE LUCRU

1. Preincubati reactivul de lucru, probele si controalele la temperatura reactiei
2. Setati fotometrul la absorbanta 0 cu apa distilata
3. Pipetati intr-o cuveta:

Reactiv de lucru	1.0 mL
Proba sau control	20 µL

4. Amestecati usor prin inversie. Introduceti cuveta in celula de citire si porniti ceasul de laborator
5. Incubati timp de 1 minut si notati absorbanta initiala.
6. Repetati citarea absorbantei dupa 1, 2 sau 3 minute.
7. Calculati diferența dintre absorbante.
8. Calculati media rezultatelor pentru a obtine nivelul mediu al schimbării in absorbanta pe minut

METODA DE CALCUL

$$U/L = \Delta A/min \times 2764$$

Probele cu $\Delta A/min$ mai mare de 0.250 la 405 nm trebuie diluate cu 1:2 solutie salina si analizata din nou. Inmultiti rezultatul obtinut cu 2.

In cazul in care rezultatele trebuie sa fie exprimate in unitati SI se aplica formula de corectie:

$$U/L \times 0.01667 = \mu\text{kat/L}$$

VALORI DE REFERINTA

Ser, plasma

25°C	
Copii, pana la	480 U/L (8.0 µkat/L)
Adulti, pana la	180 U/L (3.0 µkat/L)

30°C	
Copii, pana la	590 U/L (9.8 µkat/L)
Adulti, pana la	220 U/L (3.7 µkat/L)

37°C	
Copii, pana la	800 U/L (13.3 µkat/L)
Adulti, pana la	270 U/L (4.5 µkat/L)

Se recomanda ca fiecare laborator sa-si stabileasca propriile valorile de referinta.

CONTROL DE CALITATE

Folosirea unui standard pentru a calcula rezultatele permit obtinerea o acuratete a rezultatelor independente de sistem sau de instrumental folosit.

Pentru a asigura calitatea de control adevarata (QC), fiecare rulare ar trebui sa include un set de controale (normale sau anormale) cu valorile de analiza tratate ca nestiute.

1980005 MULTISER UMAN NORMAL
NIVEL DE ALP SCAZUT. ANALIZA

REF

1985005 MULTISER UMAN ANORMAL
NIVEL DE ALP CRESCUT. ANALIZA.

REF

SEMNIFICATIA MEDICALA

Masurarile de ser ALP sunt au o importanta aparte in investigarea a doua grupuri de conditii: *boli de oase si boli hepatobiliare*.

In ceea ce privesc bolile de oase cel mai mare nivel de ALP se intalneste in cazul bolii Paget si in cazul pacientilor cu cancer osos osteogenic, iar un nivel moderat de ALP il intalnim in cazul osteomelaciei sirahitismului, ultimul scazand la un nivel normal in urma tratamentului cu vitamina D.

Cresterea fiziologica a oaselor duce la cresterea de ALP in ser in cazul copiilor aflati in perioada de crestere iar o crestere tranzitorie a acestuia se poate intalni in timpul refacerii fracturilor de oase.

Motivele de scadere a nivelului de ALP in plasma sunt: cretinismul, deficiența de vitamina D, hipofosfatazia si in cazul unor boli de oase ereditare.

Raspunsul ficatului la orice forma de obstrucție a ductului biliar este să sintetizeze mai mult ALP. Cresterea de ser ALP mai este cauzată și de obstrucția biliară intrahepatica de către un cancer invadator sau medicamente. Orice medicament care este hepatotoxic sau induce colestaza va duce la o crestere de ALP considerabilă. Mai bine de 200 de medicamente s-a aratat că produc o crestere de ALP în cazul pacientilor suspecti de astă ceva.

PERFORMANTELE ANALIZEI

- **Linearitate.** Pana la 800 U/L
- **Precizie**

U/L	In timpul analizei*		
Mean	49	186	301
SD	0.7	2.8	5.2
Cv%	1.43	1.5	1.72
N	21	21	21

*Replicati: 21 pentru fiecare nivel

Instrument: PHILIPS

- **Sensibilitate.** Folosind acest reactiv sau metoda un $\Delta A/min$ de 0.010 reactiv la 405 nm este echivalent la 1.60 U/L de aciditate fosfatasa

- **Corelare.** Aceasta analiza (y) a fost comparata cu o metoda comerciala similara (x). Rezultatele au fost:

$$N = 25 \quad r = 0.999 \quad y = 0.961x + 5.431$$

REFERINTE

1. German Society for Clinical Chemistry: Recommendations of

Joaquin Costa, n° 18, 2^o planta. 08390-Montgat-BCN-SPAIN. Telf: (+34) 934 694 990. Fax: (+34) 934 693 435
www.linear.es e-mail: linear@linear.es e-mail: office@balmmed.ro Tei/fax:021 327 52 69

the Enzyme Commission. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10 : 281 (1972).

2. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).
3. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
4. Young, D.S., pestaner, L.G., and Gibberman, P. Clin. Chem. 21 : 246D-248D (1975).

