

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η δραστηριότητα του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση (ALP) προσδιορίζεται κινητικά σύμφωνα με τις προδιαγραφές της Γερμανικής Εταιρείας Κλινικής Χημείας (DGKC). Η παρουσία του ενζύμου, σε αλκαλικό περιβάλλον διαιθανολαμίνης (DEA), καταλύει την υδρόλυση του υποστρώματος p-φωσφορική νιτροφαινόλη (pNPP) προς σχηματισμό της έγχρωμης ένωσης π-νιτροφαινόλη. Η αύξηση της απορρόφησης στα 405 nm είναι ανάλογη της δραστηριότητας της ALP στο δείγμα.

pNPP + H₂O \xrightarrow{ALP} p-νιτροφαινόλη + H₃PO₄

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ

Παιδιά : 180 -1200 U/L (37°C)
Ενήλικες : 98 - 279 U/L (37°C)

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

R1. Ρυθμιστικό διάλυμα DEA
R^{1a}. Υπόστρωμα p-NPP
R⁵. Κενό φιαλίδιο εργασίας (όπου απαιτείται)

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Συσκευασία 30 x 3 ml :

Μεταφέρατε 3 ml ρυθμιστικού διαλύματος (R¹) σε ένα φιαλίδιο υποστρώματος (R^{1a}).

Συσκευασία 10 x 12 ml :

Μεταφέρατε 12 ml ρυθμιστικού διαλύματος (R¹) σε ένα φιαλίδιο υποστρώματος (R^{1a}).

Συσκευασία 8 x 25 ml :

Μεταφέρατε 25 ml ρυθμιστικού διαλύματος (R¹) σε ένα φιαλίδιο υποστρώματος (R^{1a}).

Συσκευασία 8 x 50 ml :

Μεταφέρατε 50 ml ρυθμιστικού διαλύματος (R¹) στο κενό φιαλίδιο (R⁵) και στη συνέχεια διαλύσατε σε αυτό ποσοτικά ένα φιαλίδιο υποστρώματος (R^{1a}).

Ανάδευση μέχρι την πλήρη διάλυση.

Διαλύματα εργασίας διαφορετικών ημερών θα πρέπει να αναμειγνύονται **πριν** την χρησιμοποίησή τους.

ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ

Ρυθμιστικό διάλυμα Διαιθανολαμίνης 1M - pH 9.8 p-NPP 10 mM, ιόντα Mg⁺⁺ 0.5 mM.

ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C. Σταθερότητα διαλύματος εργασίας 24 ώρες σε θερμοκρασία 15-30°C και τουλάχιστον 7 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟ ΔΕΙΓΜΑ

Ορός. Σταθερότητα της Αλκαλικής Φωσφατάσης στο δείγμα 7 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Μήκος κύματος : 405 nm
Θερμοκρασία : 37°C
Κυψελίδα : 1 cm
Μεταφέρατε **1ml** από το διάλυμα εργασίας σε σωληνάριο και επώαστε στους 37°C για 3 min.
- Προσθήκη :

Ορός	:	0.02 ml
-------------	---	----------------

Ανάδευση σε vortex και άμεση αναρρόφηση στο φωτόμετρο.

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Με τις παραπάνω συνθήκες ο συντελεστής (factor) έχει τιμή 2759 και η δραστηριότητα του ενζύμου υπολογίζεται από την σχέση:

ALP (U/L) 37°C = ΔA/min x 2759

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Μέχρι 1000 U/L ανάλογα με τον τύπο του αναλυτή.

CALIBRATOR/ ΟΡΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ (Δεν παρέχονται με το kit)

Biomultical, Bionorm, Biopath

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- 1.Ανεξάρτητα εάν η θερμοκρασία της κυψελίδας του φωτομέτρου είναι στους 37°C, ο χρόνος επώασης δεν επαρκεί ώστε να ανέλθει και το διάλυμα στη θερμοκρασία αυτή, ειδικά εάν είναι ψυχρό. Λαμβάνοντας υπόψη ότι 1°C διαφορά θερμοκρασίας προκαλεί σφάλμα περίπου 10%, για καλύτερη επαναληπτικότητα είναι αναγκαίο να προεπιβάλλεται το διάλυμα εργασίας.
2. Οι επί μέρους παραμέτροι του προσδιορισμού, χρόνος προεπιώασης, χρόνος επώασης, όρια ελέγχου τυφλού κ.τ.λ. εξαρτώνται από τον τύπο του φωτομέτρου. Για λεπτομερή προγράμματα παρακαλούμε συμβουλευτείτε την εταιρεία μας.
3. Εάν η δραστηριότητα του ενζύμου είναι εκτός των ορίων γραμμικότητας της μεθόδου αραιώστε το δείγμα με φυσιολογικό ορό σε αναλογία 1:9 (0.1 ml ορός + 0.9 ml NaCl 9‰) επαναλάβετε τον προσδιορισμό και πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 10.
4. Εχει αποδειχθεί ότι η χρησιμοποίηση προτύπων ορών για τον έλεγχο της ALP δεν είναι κατάλληλη, αφ'ενός λόγω της ιδιόμορφης συμπεριφοράς του ενζύμου έναντι των μεταβολών της θερμοκρασίας και αφ'ετέρου γιατί στους πρότυπους ορούς περιλαμβάνονται και πρόσθετα ένζυμα που δεν προέρχονται από άνθρωπο. Αποτέλεσμα είναι οι τιμές των προτύπων ορών να εκφράζουν την αξιοπιστία αντίστοιχων sets των εταιρειών παρασκευής και όχι της μεθόδου. Γι' αυτό εάν επιθυμείτε να βεβαιωθείτε για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων, αυτό μπορεί να γίνει μόνο με την χρησιμοποίηση ανθρώπινων ορών, και σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα αποτελέσματα αντίστοιχων sets άλλων εταιρειών της ίδιας μεθοδολογίας.

ΤΕΧΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Γραμμικότητα (Linearity): Η αντίδραση είναι γραμμική στην περιοχή συγκεντρώσεων από 5-1000U/L

Αναλυτική ευαισθησία - όριο ανίχνευσης (Sensitivity):

Το όριο ευαισθησίας του προσδιορισμού υπολογίστηκε ότι αντιστοιχεί με 5 U/L

Πιστότητα (Precision):

Επαναληψιμότητα (Repeatability):

A. Δεδομένα εντός του αυτού κύκλου ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD U/L	CV %
15	161	1,95	1,2
15	425	4,57	1,07
20	602	6,04	1,0

Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility):

B. Δεδομένα διαφόρων κύκλων και ημερών ανάλυσης:

Αριθμός δειγμάτων	Μέση Τιμή	SD U/L	CV %
16	158	5,48	3,47
10	460	19,5	4,25
16	593	15,3	2,58

Παρεμποδισεις - αλληλεπιδράσεις (Interferances):

Δεν παρουσιάζουν σημαντική αναστολή μέχρι τα αναφερόμενα όρια

Παρεμποδιστής	Έκφραση σε	Όρια mg/dl
Αιμόλυση	Αιμοσφαιρίνη	~150
Θολερότητα	Τριγλυκερίδια	~2000
Ίκτερος	Χολερυθρίνη	~40

Ανάλυση παλινδρόμησης (Regression Analysis):

Μέθοδος: Γραμμική παλινδρόμηση (Linear Regression)

Αριθμός Δειγμάτων : 39

Όρια συγκέντρωσης : 85-1170 U/l

Σχέση : $y = 10,43 + 0,97 x$

Όπου y η παρούσα μέθοδος και x παρεμφερής μέθοδος προσδιορισμού.

Συντελεστής συσχέτισης $r=0,991$

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

DGKC: J. Clin. Chem. Clin. Bioch. & 658 (1970)

ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ

30 x 3 ml

10 x 12 ml

8 x 25 ml

8 x 50 ml

