

**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 καταλύει, σε αλκαλικό περιβάλλον, 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.

**ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΙΜΕΣ**

Παιδιά : 180 - 1200 U/L (37°C)

Ενήλικες : 98 - 279 U/L (37°C)

**ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

R1. Ρυθμιστικό διάλυμα DEA

R2. Διάλυμα υποστρώματος p-NPP

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΔΙΑΛΥΜΑΤΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Εξαρτάται από τον τύπο του αναλυτή

**α) Χρήση μονού αντιδραστήριου**

Αναμίξτε τα δύο αντιδραστήρια σε αναλογία

**4 μέρη R<sub>1</sub> με 1 μέρος R<sub>2</sub>.**

(π.χ. 4 ml R<sub>1</sub> + 1 ml R<sub>2</sub>).

**β) Χρήση διπλού αντιδραστήριου**

Τα αντιδραστήρια χρησιμοποιούνται ως έχουν.

**Απαραίτητη η** χρησιμοποίηση υποδοχέων με πώμα. Μετά τη χρήση τα αντιδραστήρια να πωματίζονται όσο το δυνατόν ταχύτερα.

**ΤΕΛΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ**

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

**ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ**

Αναγράφεται στο set, σε θερμοκρασία 2-10°C.

Το διάλυμα εργασίας είναι σταθερό τουλάχιστον για 15 ημέρες σε θερμοκρασία 2-10°C εάν πωματίζεται μετά από κάθε χρήση ώστε να αποφεύγεται η προσρόφηση διοξειδίου του άνθρακα.

**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 :

<b>Ορός</b>	:	<b>0.02 ml</b>
-------------	---	----------------

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:

$$\text{ALP (U/L)}_{37^\circ\text{C}} = \Delta\text{A/min} \times 2759$$

**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 προεπιτάσσεται 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 /<sup>00</sup>) επαναλάβετε τον προσδιορισμό και πολλαπλασιάστε τα αποτελέσματα επί 10.

## **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**

R1 : 3 x 48 ml R2 : 1 x 36 ml

