

DAC-SpectroMed s.r.l.
 MD-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
 Тел.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-38623324-002:2002

ALP-DEA-DAC
ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА
КИНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД С ДИЭТАНОЛАМИНОМ

Только для диагностики «in vitro»
 Хранить при 2-8°C

Код 2006A100 100 мл

ПРИНЦИП МЕТОДА

Щелочная фосфатаза (ALP) в щелочной среде катализирует перенос фосфатной группы от 4-нитрофенилфосфата к диэтаноламину (DEA), с высвобождением 4-нитрофенола. Интенсивность образующейся окраски, измеренной при длине волны 405 - 410 nm, пропорциональна активности ALP^{1,2}.
 4-нитрофенил фосфат+DEA \xrightarrow{ALP} DEA-фосфат + 4-нитрофенол

СОСТАВ НАБОРА

Reagent A	80 ml	pH 9,8
Диэтаноламин		1,0 mol/l
Магния хлорид		0,6 mmol/l
Reagent B	20 ml	
4-нитрофенилфосфат		10 mmol/l

Важно! Не допускать попадания на кожу и слизистые.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.
Признаки непригодности реагентов: присутствие взвеси, мутность, абсорбция Рабочего реагента $\geq 0,850$ при 405(± 10) nm (кюветы на 1 cm).

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сыворотка, свободная от гемолиза.
 ALP в сыворотке при 2- 8°C стабильна 7 дней.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ

Дети⁶: 180 - 1200 U/l
Взрослые⁶: 98 - 279 U/l
 Данные величины ориентировочны, рекомендуется определение собственных референтных значений в каждой лаборатории.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические **контрольные сыворотки**. Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий фотометр 37°C, с фильтром 405 - 410 nm.
 Дозаторы на 20 μ l, 200 μ l и 800 μ l.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.
 Образцы крови пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные. При использовании набора следует соблюдать правила безопасности при работе с едкими и ядовитыми веществами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Реагенты готовы к использованию.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: кинетический (повышающий)
 Длина волны: 405-410 nm
 Температура: 37°C
 Бланк: по воздуху или дистиллированной воде

1. Доведите температуру реагентов и фотометра до температуры реакции (37°C).

2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 cm*:

Reagent A 800 μ l

Образец, Стандарт 20 μ l

3. Смешайте, инкубируйте в течение 1 минуты, обавьте в кювету:

Reagent B 200 μ l

4. Смешайте и спустя 60 секунд измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измерьте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 2 минут.

5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту (ΔA /min).

*NB: Объемы реагента и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы анализатора.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Содержание ALP в образце (U/l) определяется по фактору: 405 nm: **Активность (U/l) = ΔA /min** \times 3250

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 0,001 ΔA /min=3,25 U/l.

Предел линейности: 0,554 ΔA /min=1800 U/l.

Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV*	n*
191 U/l	0,91 %	20
642 U/l	0,96 %	20

Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV*	n*
176 U/l	2,29 %	25
416 U/l	1,43 %	25

CV-коэффициент вариации: n-количество определений.

Интерференция: Билирубин до 128,3 μ mol/l (0,075 g/l), липиды до 10 g/l, глюкоза до 55,5 mmol/l (10 g/l) и аскорбиновая кислота до 2,84 mmol/l (0,5 g/l) не влияют на результат определения. Другие лекарственные препараты и субстанции могут влиять на результат^{4,6}.

Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Щелочная фосфатаза катализирует гидролиз моноэфиров органического фосфата в щелочной среде. Фермент присутствует во всех тканях организма, но особенно около и внутри клеточных мембран, а также в плаценте, эпителии кишечника, почечных канальцах, остеобластах и печени. Источником сывороточной щелочной фосфатазы являются печень и кости.

Повышение содержания сывороточной ALP может быть вызвано следующими причинами: заболевания костной ткани, сопровождающиеся повышенной активностью остеобластов, заболевания печени: гепатит, обструктивная желтуха, токсические поражения печени, рак печени. Физиологические изменения, такие как рост кости или беременность, также могут вызвать повышение уровня ALP⁶.

Клинический диагноз должен устанавливаться на основе интеграции клинических и лабораторных данных.

DAC-SpectroMed s.r.l.
 MD-2012, Moldova, or. Chişinău, str. Armenească 47, ap. 64
 Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; fax: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com
 PT MD 11-38623324-002:2002

ALP-DEA-DAC
ACTIVITATEA FOSFOTAZEI ALCALINE
METODA CINETICĂ CU DIETANOLAMIN

Numai pentru diagnosticare «in vitro»
 A se păstra la 2-8°C

Код 2006A100 100 ml

PRINCIPIUL METODEI

Fosfatiza alcalină (ALP) în mediu alcalin catalizează trecerea grupei fosfatice de la 4-nitrofenilfosfat la dietanolamin (DEA), eliberând 4-nitrofenol.
 4. Intensitatea culorii, măsurată la 405 - 410 nm, este proporțională activității ALP^{1,2}.

4-nitrofenil fosfat + DEA \xrightarrow{ALP} DEA - fosfat + 4-nitrofenol

COMPONENTA SETULUI

Reagent A	80 ml	pH 9,8
Dietanolamin		1,0 mol/l
Clorură de magneziu		0,6 mmol/l
Reagent B	20 ml	
4-nitrofenilfosfat		10 mmol/l

Toxic ! Nu se permite pătrunderea pe piele și mucoase.

PĂSTRAREA ȘI STABILITATEA REAGENȚILOR

Reagenții sunt stabili la 2-8°C până la data indicată pe etichetă.
 Semne de deteriorare: prezența particulelor material, turbiditate, absorbția Reagentului de lucru $\geq 0,850$ la 405(± 10) nm (cuva 1 cm).

PROBE

Ser. Nu se va utiliza ser hemolizat.
 ALP în ser este stabilă la 2- 8°C 7 zile.

VALORI DE REFERINȚĂ

Copii⁶: 180 - 1200 U/l
 Maturi⁶: 98 - 279 U/l
 Aceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratoriatul dat

CONTROLUL CALITĂȚII

Pentru controlul mersului reacției și a procedurii de măsurare se recomandă de folosit seruri normale și patologice pentru control.
 Se recomandă stabilirea sistemului intern de control în laboratorul dat.

ECHIPAMENT ADIȚIONAL

Analizator, spectrofotometru sau fotometru cu filtru 405 - 410 nm termostatic la 37°C.
 Dozatoare la 20 μ l, 200 μ l și 800 μ l.

PRECAUȚII

Setul este destinat numai pentru diagnosticare in vitro
 Probele pacienților vor fi considerate ca material potențial contagios și se vor prelucra analogic celor contagioase
 La utilizarea setului se vor respecta regulile de securitate prevăzute pentru lucrul cu substanțe toxice.

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

Reagenții sunt gata de utilizare.

METODA DE LUCRU

Metoda: cinetic (cresterea)
 Lungimea de undă: 405-410 nm
 Temperatura: 37°C
 Instalarea zero: după aer sau apă distilată

1. Reagentul și fotometrul se vor încălzi până la temperatura reacției (37°C).

2. Se va pipeta în cuva cu lungimea drumului optic 1 cm*:

Reagent A 800 μ l

Proba, Standard 20 μ l

3. Se va amesteca și se va incuba 1 minute. Se va adăuga:

Reagent B 200 μ l

4. După 60 secunde măsurată absorbția inițială contra apei distilate, apoi măsurată absorbția peste fiecare 1 minut timp de 2 minute.

5. Se va calcula diferența dintre absorbțiile consecutive și diferența medie a absorbției pe minut (ΔA /min).

* NB: Volumul reagentului și probei pot fi schimbate proporțional conform volumului de lucru a cuvei analizatorului.

CALCULE

Conținutul ALP în probă (U/l) se va calcula utilizând formula: Calcul după factor:
 405 nm: **Activitatea (U/l) = ΔA /min** \times 3250

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 0,001 ΔA /min=3,25 U/l.

Limita linearității: 0,554 ΔA /min=1800 U/l.

Reproductibilitatea în limitele perioadei:

Concentrația medie	CV*	n*
191 U/l	0,91 %	20
642 U/l	0,96 %	20

Reproductibilitatea de la perioadă la perioadă:

Concentrația medie	CV*	n*
176 U/l	2,29 %	25
416 U/l	1,43 %	25

* CV-coeficientul de variație; n-numărul de determinări.

Interferențe: Bilirubina până la 128,3 μ mol/l (0,075 g/l), lipidele până la 10 g/l, glucoza până la 55,5 mmol/l (10 g/l) și acidul ascorbic până la 2,84 mmol/l (0,5 g/l) nu influențează la rezultatele determinării. Se va ține cont de posibila interferență medicamentoasă, cit și de interferența altor substanțe^{4,6}.

Aceste caracteristici metrologice au fost obținute la utilizarea analizatorului. Rezultatele pot varia în dependență de echipamentul utilizat sau procedura de determinare.

CARACTERISTICI DIAGNOSTICE

Fosfatiza alcalină catalizează hidroliza monoesterilor fosfatului organic în mediu alcalin. Practic toate țesuturile organismului conțin acest ferment, dar mai ales se întâlnesc în țesuturile din interiorul membranelor celulare, în placenta, în epitelii intestinale, tuburile renale, osteoblast și ficat.

Creșterea conținutului de ALP în ser poate fi cauzată de următorii factori: maladii ale țesutului osos, urmate de activitatea înaltă a osteoblastelor (boala Paget, hiperparatiroidism primar și secundar, tumori osoase, rahitism, osteomalacia, fracturarea oaselor), diferite boli ale ficatului: hepatită, icter obstructiv, afectarea medicamentoasă toxică a ficatului, cancerul ficatului. Schimbările fiziologice, așa ca creșterea osului sau sarcina, de asemenea pot duce la creșterea nivelului de ALP⁶.

Diagnosticul clinic se va stabili în baza integrării datelor clinice și de laborator.



DAC-SPECTROMED SRL

47, Armeneasca, str., apt. 64, Chisinau MD-2012 Moldova
 Tel.: /+37322/ 574900,574922/23; fax: /+37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
 www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

ALP-DEA-DAC

ALKALINE PHOSPHATASE
 KINETIC TEST WITH DIETHANOLAMINE BUFFER

For «in vitro» diagnostic use only
 Store at 2-8°C

Cod 2006A100 100 ml

PRINCIPLE

In alkaline medium alkaline phosphatase (ALP) catalyzes the transfer of the phosphate group from 4-nitrophenylphosphate to diethanolamine (DEA), releasing 4-nitrophenol. The activity of ALP is determined from the rate of colour formation, measured at 405-410 nm^{1,2}.



CONTENTS AND COMPOSITION

Reagent A	1 x 80 ml	pH 9.8
Diethanolamine		1,0 mol/l
Magnesium chloride		0,6 mmol/l
Reagent B	1x 20 ml	
4-nitrophenylphosphate		10 mmol/l

Harmful! Avoid contact with skin and mucous membranes.

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label. Indications of deterioration: presence of particulate material, turbidity, absorbance of working reagent ≥ 0.850 at 405 (± 10) nm (1 cm light path cuvettes).

SAMPLES

Serum free of Hemolysis.
 Alkaline Phosphatase in serum or plasma is stable for 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Children: 180-1200 U/l.
 Adult: 98-279 U/l.

These ranges are given for orientation only; each laboratory should establish its own reference ranges.

QUALITY CONTROL

It is recommended to use the Sera N and Sera P to verify the performance of the measurement procedure. Each laboratory should establish its own internal Quality Control scheme and procedures for corrective action if controls do not recover within the acceptable tolerances.

ADDITIONAL EQUIPMENT

Analyzer, spectrophotometer or photometer with cell holder thermostatable at 37°C and able to read at 405-410 nm.
 Cuvettes with 1 cm light path.
 Pipettes for 20 μ l, 200 μ l and 800 μ l.

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.
 All patients' samples should be considered as potentially dangerous and handled as infectious. Follow safety measures for handling harmful and poisonous substances.

REAGENT PREPARATION

Reagents are ready to use.

PROCEDURE

Method: kinetic (increasing)
 Wavelength: 405-410 nm
 Temperature: 37°C
 Read against: distilled water or air

1. Bring the Reagents and the instrument to reaction temperature (37°C).

2. Pipette into a cuvette 1 cm light path:

Reagent A 800 μ l

Sample, Standard 20 μ l

3. Mix and incubate for 1 minute. Add in cuvette:

Reagent B 200 μ l

4. After 1 minute record the initial absorbance against distilled water, then measure absorbance for 2 minutes at 1 minute interval.

5. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute ($\Delta A/\text{min}$).

*NB: reagents and sample volumes can be changed proportionally according to the working volume of the cuvette.

CALCULATIONS

The ALP concentration in the sample (U/l) is calculated using factor:

$$405 \text{ nm: Activity (U/l)} = \Delta A / \text{min}_{\text{Sam}} \times 3250$$

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 0,001 $\Delta A/\text{min} = 3,25$ U/l.

Linearity limit: 0,554 $\Delta A/\text{min} = 1800$ U/l.

Repeatability (within run):

Mean Concentration	CV	n
191 U/l	0,91 %	20
642 U/l	0,96 %	20

Reproducibility (run to run):

Mean Concentration	CV	n
176 U/l	2,29 %	25
416 U/l	1,43 %	25

CV - coefficient of variation n - number of determinations

Interferences: Bilirubin up to 128,3 $\mu\text{mol/l}$ (0,075 g/l), lipids up to 10 g/l, glucose up to 55,5 mmol/l (10 g/l) and ascorbic acid up to 2,84 mmol/l (0,5 g/l) do not interfere. Other drugs and substances may interfere³.

These metrological characteristics have been obtained using an analyzer. Results may vary if a different instrument or manual procedures are used.

DIAGNOSTIC CHARACTERISTICS

Alkaline Phosphatase catalyzes the hydrolysis of organic phosphate monoesters at alkaline pH. The enzyme is present in practically all tissues of the body, especially at or in the cell membranes, and it occurs at particularly high concentrations in placenta, intestinal epithelium, kidney tubules, osteoblasts and liver. The form present in the sera of normal adults originates mainly in the liver and bone.

Elevated serum ALP is found in patients with bone disease associated with increased osteoblastic activity (Paget's disease, primary and secondary hyperparathyroidism, bone tumors, rickets, osteomalacia, bone fractures) and also in patients with hepatobiliary disease (obstructive jaundice, hepatitis, hepatotoxicity caused by drugs, liver cancer). Physiological changes, such as bone growth and pregnancy, may cause increases in ALP levels^{5,6}.

Clinical diagnosis should not be made on the findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Haussament T.U. et. Al. Clin. Chem. Acta 35. 271-273 (1977).