



شرکت افلاک طب هگمتانه

کیت اندازه گیری فعالیت آنزیم آلکان فسفاتاز در سرم و پلاسما با روش های دستی و دستگاهی

نمونه ها (3, 4):

نمونه سرم عاری از همولیز، پلاسما هیپارینه.

نمونه	پایداری		
	اتاق (روز)	یخچال (روز)	فریزر -20 °C (روز)
سرم/پلاسما	7	7	60

روش انجام آزمایش:

طول موج: 450 nm
 دما: 37 °C
 قطر کووت: 1 cm
 نسبت نمونه/ معرف: 1 به 45
 روش دو محلوله:

نمونه	استاندارد	پلانک	
آب مقطر (µL)	-	25	
استاندارد (µL)	25	-	
نمونه (µL)	-	-	25
محلول معرف شماره 1 (µL)	1000	1000	1000
پس از مخلوط کردن 5 دقیقه صبر کنید و سپس معرف شماره 2 را اضافه کنید.			
محلول معرف شماره 2 (µL)	125	125	125
پس از مخلوط کردن، 20 ثانیه صبر کنید، جذب نوری را تعیین نموده، اختلاف نوری را پس از 80 ثانیه به دست آورید.			

محاسبات:

در سرم و پلاسما:

$$\frac{\text{abs Sample } (\Delta\text{abs}/\text{min})}{\text{abs Calibrator } (\Delta\text{abs}/\text{min})} \times \text{Calibrator Activity (U/L)} = \text{Sample Activity (U/L)}$$

ضریب تبدیل واحد:

$$\text{ALP [IU/L]} \times 0.0167 = \text{ALP } [\mu\text{kat/L}]$$

اطلاعات سفارش:

شماره سفارش:	1.AL.P01.99.200
حجم محلول:	RI: 5 x 35 mL R2: 1 x 25 mL

مقدمه (1):

آنزیم ALP به گروهی از فسفاتازهای قلیایی اطلاق می شود که حداکثر فعالیت خود را در pH قلیایی 9-10 نشان می دهد. اگرچه ALP در بسیاری از بافت ها یافت می شود، اما بالاترین فعالیت آن در کبد، اپیتلیوم دستگاه صفراوی و استخوان یافت می شود. استخوان مهم ترین منبع خارج کبدی ALP است.

اندازه گیری فعالیت این آنزیم برای شناسایی اختلالات کبدی و استخوانی بسیار با اهمیت است. ALP در کودکان و نوجوانان طی دوره رشد، همچنین در سه ماهه سوم حاملگی بطور فیزیولوژیک افزایش می یابد. افزایش قابل توجه ALP در مواردی مانند انسداد خارج کبدی (سنگ صفراوی، تومور و...)، انسداد داخل کبدی و بیماری های استخوان (بیماری پژه، سرطان استخوان و...) مشاهده می شود. همچنین فعالیت این آنزیم در هپاتیت، سیروز، بیماری استئومالاسی، هایپرپاراتیروئیدسم و طی دوره التیام شکستگی استخوان افزایش متوسطی می یابد.

اساس آزمایش (2):

روش کینتیک توصیه شده توسط انجمن IFCC

آلکان فسفاتاز در محیط بافری AMP، سوبسترای pNPP را به 4-nitrophenol تبدیل میکند. سرعت تشکیل 4-nitrophenol ارتباط مستقیم با فعالیت آنزیم دارد.

ریجننت ها:

محتویات و مقادیر: (براساس محلول آماده شده برای کار)

معرف 1:

2-amino-2-methyl-1-propanol	1.74	mol/L
pH 10.4 (at 30 °C)		
Magnesium acetate	3.83	mmol/L
Zinc sulfate	0.766	mmol/L
EDTA	3.83	mmol/L

معرف 2:

pNPP, pH 8.5 (at 25 °C)	132.8	mmol/L
-------------------------	-------	--------

آماده سازی:

محلول ها به صورت آماده برای مصرف می باشد.

شرایط نگهداری و پایداری محلول ها:

معرف ها تا تاریخ انقضای مندرج روی کیت، در صورتی که در دمای 2 تا 8 درجه سانتی گراد نگهداری شوند و از آلودگی جلوگیری شود، پایدار هستند. معرف ها را منجمد نکنید و از نور محافظت کنید.

بهداشت، ایمنی و دفع مواد زائد:

جهت حذف و دور ریز تمام پسماندها طبق الزامات قانونی و SOP آزمایشگاه انجام شود. برای جلوگیری از آلودگی معرفها، از وسایل تمیز یا یکبار مصرف استفاده نمایید. هنگام کار از دستکش استفاده کنید. به دلیل وجود سدیم آزاید از تماس معرفها با پوست و چشم خودداری کنید.

دامنه مرجع (3, 4):

نمونه	جنسیت	سن	دامنه مرجع	واحد
سرم / پلاسما	مردان	14-0 روز	248-83	U/L
		15 روز-1 سال	469-122	
		10-1 سال	335-142	
		13-10 سال	417-129	
		15-13 سال	468-116	
		17-15 سال	331-82	
	زنان	20-17 سال	149-55	
		50-20 سال	128-53	
		60-50 سال	137-41	
		بیشتر از 60 سال	119-56	
		14-0 روز	248-83	
		15 روز-1 سال	469-122	
سرم / پلاسما	مردان	10-1 سال	335-142	U/L
		13-10 سال	417-129	
		15-13 سال	254-57	
		17-15 سال	117-50	
		20-17 سال	87-45	
		50-20 سال	98-42	
	زنان	60-50 سال	118-39	
		بیشتر از 60 سال	141-53	
		14-0 روز	248-83	
		15 روز-1 سال	469-122	
		10-1 سال	335-142	
		13-10 سال	417-129	

هر آزمایشگاه محدوده مرجع خود را تعیین نماید.

کنترل کیفی:

جهت انجام کنترل کیفی و کالیبراسیون می توانید از کنترل ها و کالیبراتورهای بیوشیمی تجاری استفاده کنید.

ویژگی ها و کارایی کیت:

محدوده اندازه گیری (5, 6):

Measuring Range: 5.0 – 1200 U/L

Limit Of Blank (LOB): 0.013 U/L

Limit Of Detection (LOD): 0.25 U/L

Limit Of Quantification (LOQ): 5.0 U/L

فعالیت های بالاتر از 1200 IU/L را به نسبت 1 قسمت از نمونه + 1 قسمت از سرم فیزیولوژی رقیق نموده (1/2) و جواب آزمایش در عدد 2 ضرب شود.

دقت (7):

	n	Mean	Within Run CV%	Total CV%
Low	80	93	0.7	2.4
Normal	80	224	0.6	1.7
High	80	1050	0.7	0.9

آزمایشها با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر در دمای 37 °C انجام شده است.

مقایسه روش ها (8):

در مقایسه انجام شده جهت ارزیابی کیت ALP شرکت افلاک طب هگمتانه (Y) با کیت تجاری ALP (X) روش IFCC بر روی 40 نمونه بیمار با محدوده فعالیت 18 – 1187 U/L نتایج زیر به دست آمده است:

Correlation Coefficient: (r)=0.9971

Linear regression: Y= 0.958 (x) – 0.357 U/L











عوامل مداخله گر (9):

Additive		Serum with additive	
Name	Final concentraion	ALP activity (U/L)	Interference%
TG	None	150.00	
	400 (mg/dL)	152.00	1.33
	600	155.00	3.33
	800	160.00	6.67
	1600	164.00	9.33
	200	171.00	14.00
Hb	None	150.00	
	100 (mg/dL)	156.00	4.00
	150	161.00	7.33
	200	169.00	12.67
B.T	None	150.00	
	15 (mg/dL)	150.00	0.00
	25	155.00	3.33
	30	159.00	6.00
	35	162.00	8.00
	40	179.00	19.33

مراجع:

- Sacks, D.B. Enzyme, Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th Ed., Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2001), 352.
- Schumann G, Klauke R, Canalias F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37° C. - Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 2011 Sep;49 (9):1439-46.
- https://www.mayocliniclabs.com
- Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5thEd., Burtis, C.A. & Ashwood, E.R. (W.B. Saunders eds. Philadelphia USA), (2008), 286.
- Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline. CLSI EP17A (2004).
- Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures, 2nd Edition, CLSI EP06-A (2003).
- Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline— Evaluation, CLSI EP5-A2 (2004).
- Method comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. CLSI EP9-A2, (2002).
- Interference Testing in Clinical Chemistry; approved guideline. CLSI EP07-A2, 2005.

علامت:

	Temperature limitation		Catalogue number
	Manufacture address		Expiration date
	Batch code		Date of manufacture
	In vitro diagnostic medical device		Reagent 1
	Consult instruction for use		Reagent 2