



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
Tel.: /+37322/ 574900, 574922/23; факс: /+37322/ 574920
Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

PT MD 11-38623324-002:2002

ALP - DAC ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФАТАЗА КИНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД С ДИЭТАНОЛАМИНОМ

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

Код 2005A100 100 ml

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 | 2x50 ml | pH 10,2 |
| Диэтаноламин | | 1,25 mol/l |
| Магния хлорид | | 0,625 mmol/l |
| Reagent B | 2x0,225 g | При растворении: |
| 4-нитрофенилфосфат | | 10 mmol/l |

Внимание! 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 $\geq 1,30$ 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 и 1,0 ml.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики in vitro.
Образцы крови пациентов должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Во флакон с Reagent B налейте 50 ml Reagent A и перемешайте.
Рабочий Реагент стабилен 2 недели при 2-8°C.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод: кинетический
Длина волны: 405-410 nm
Температура: 37°C
Бланк: по воздуху или дистиллированной воде
1. Доведите температуру Рабочего реагента и фотометра до температуры реакции (37°C).
2. Внесите в кювету с длиной оптического пути 1 см*:
Рабочий реагент 1,0 ml
Образец Стандарт 20 μ l
*NB: Объемы реагента и образца могут быть пропорционально изменены в соответствии с рабочим объемом кюветы используемого анализатора.
3. Смешайте и поместите кювету в фотометр. Включите секундомер.
4. Спустя 60 секунд измерьте начальную абсорбцию против дистиллированной воды, затем измеряйте абсорбцию через каждую 1 минуту в течение 2 минут.
5. Вычислите разницу между последовательными абсорбциями и среднюю разницу абсорбции за 1 минуту ($\Delta A/min$).

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Содержание ALP в образце (U/l) определяется по формуле:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{об}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{Ст}}} \times C_{\text{Ст}} = C_{\text{об}}$$

Вычисление по фактору:

$$405 \text{ nm: Активность (U/l)} = \Delta A / \text{min}_{\text{об}} \times 3000$$

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Предел чувствительности: 3,0 U/l.
Предел линейности: 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 практически 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 (болезнь Педжета, первичный и вторичный гиперпаратиреозидизм, опухоли кости, рахит, остеомаляция, переломы кости), различными заболеваниями печени: гепатит, obstructивная желтуха, токсические медикаментозные поражения печени, рак печени. Физиологические изменения, такие как рост кости или беременность, также могут вызвать повышение уровня ALP⁵. Клинический диагноз должен устанавливаться на основе интеграции клинических и лабораторных данных.



DAC-SpectroMed s.r.l.

MD-2012, Moldova, or. Chisinau, 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 - DAC ACTIVITATEA FOSFOTAZEI ALCALINE METODA CINETICĂ CU DIETANOLAMIN

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

Cod 2005A100 100 ml

ПРИНЦИПЫ МЕТОДЕЙ

Фосфатаза алкалин (ALP) в щелочной среде катализирует переход фосфата от 4-нитрофенилфосфата к диэтаноламину (DEA), освобождая 4-нитрофенол. Интенсивность окраски, измеренная 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 | 2x50 ml | pH 10,2 |
| Диэтаноламин | | 1,25 mol/l |
| Хлорид магния | | 0,625 mmol/l |
| Reagent B | 2x0,225 g | При растворении: |
| 4-нитрофенилфосфат | | 10 mmol/l |

Внимание! Не допускать попадания на кожу и слизистые.

ПАСТРАВА И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты стабильны при 2-8°C до срока, указанного на этикетке.
Семна де deteriorare: prezența particulelor materiale, turbiditate absorbția Reagentului de lucru mai mult 1,30 la 405 nm (cuva 1 cm).

PROBE

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

ВАЛОРИ ДЕ РЕФЕРИНȚĂ

Copii⁶: 180 - 1200 U/l
Maturi⁶: 98 - 279 U/l

Аceste valori sunt orientative. Se recomandă stabilirea diapazonului de referință în laboratorul 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 și 1,0 ml.

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

PREPARAREA REAGENȚILOR DE LUCRU

În flaconul cu Reagent B turnați 50 ml Reagent A și amestecați.
Reagentul de lucru este stabil 2 săptămâni la 2-8°C.

METODA DE LUCRU

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

1. Reagentul de lucru și fотометруl se vor încălzi până la temperatura reacției (37°C).
2. Se va pipeta în cuva cu lungimea drumului optic 1 cm*:

| | |
|--------------------|------------|
| Reagentul de lucru | 1,0 ml |
| Proba, Standard | 20 μ l |

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

3. Se va amesteca, cuva se va inserta în fотометру. Se va declanșa cronometru.
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 ($\Delta A/min$).

CĂLCULE

Conținutul ALP în probă (U/l) se va calcula utilizând formula:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Pr}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{St}}} \times C_{\text{St}} = C_{\text{Pr}}$$

Calcul după factor:

$$405 \text{ nm: Activitatea (U/l)} = \Delta A / \text{min}_{\text{Pr}} \times 3000$$

CARACTERISTICI METROLOGICE

Limita sensibilității: 3,0 U/l.
Limita linearității: 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

Fosfataza alcaalină catalizează hidroliza monoesterilor fosfatului organic în mediu alcalin. Practic toate țesuturile organismului conțin acest ferment, dar mai ales se întâlnește lângă și în interiorul membranele celulare, în placenta, în epiteliiu intestinului, 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 Pedget, hiperparatireoidism 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, deasemenea pot duce la creșterea nivelului de ALP⁵. 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 - DAC

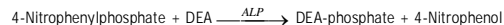
ALKALINE PHOSPHATASE
KINETIC TEST WITH DIETHANOLAMINE BUFFER

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

Cod 2005A100 100 ml

PRINCIPLE

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



CONTENTS AND COMPOSITION

| | | |
|------------------------|-----------|------------|
| Reagent A | 2 x 50 ml | pH 10,2 |
| Diethanolamine | | 1,0 mol/l |
| Magnesium chloride | | 0,6 mmol/l |
| Reagent B | 2x0,225 g | |
| 4-nitrophenylphosphate | | 10 mmol/l |

Harmful! Harmful if swallowed

STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents are stable at 2-8°C until the expiry date shown on the label.

Indications of deterioration:

Reagents: presence of particulate material, turbidity, absorbance of the blank over 1,30 at 405(±10) nm (1 cm cuvette).

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 µl and 1,0 ml.

PRECAUTION

For in vitro diagnostics only.

Handle all patients' samples as potentially dangerous and treat as infectious.

REAGENT PREPARATION

Working Reagent:

0,225 g Reagent B + 50 ml Reagent A. Mix gently.
Working Reagent is stable for 2 weeks at 2-8°C.

PROCEDURE

Assay conditions

| | |
|---------------|----------------------|
| Wavelength: | 405-410 nm |
| Temperature: | 37°C |
| Cuvette: | 1 cm light path |
| Read against: | distilled water |
| Method: | kinetic (increasing) |

1. Bring the Working Reagent and the instrument to reaction temperature (37°C).
2. Pipette into a cuvette 1 cm light path:
Working Reagent 1,0 ml
Sample or Standard 20 µl
3. Mix and insert the cuvette into the photometer. Start the stopwatch.
4. After 60 sec record initial absorbance and record absorbance at 1 minute intervals thereafter for 2 minutes.
5. Calculate the difference between consecutive absorbances, and the average absorbance difference per minute (ΔA/min).

CALCULATIONS

The ALP concentration in the sample is calculated using the following general formula:

$$\frac{\Delta A / \text{min}_{\text{Sam}}}{\Delta A / \text{min}_{\text{St}}} \times C_{\text{St}} = C_{\text{Sam}}$$

Calculation using factor
405 nm: Activity (U/l) = ΔA / min_{Sam} x 3000

METROLOGICAL CHARACTERISTICS

Detection limit: 3,0 U/l.

Linearity limit: 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 128,3 µmol/l (0,075 g/l), lipid 10 g/l, glucose 55,5 mmol/l (10 g/l) and ascorbic acid 2,84 mmol/l (0,5 g/l) do not interfere. Other drugs and substances may interfere⁴.

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. The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Recommended methods for determination of four enzymes in blood. Scand J Clin Lab Invest 1974; 33: 291-306.
2. Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Z Klin Chem Klin Biochem 1970; 8: 658-660.
3. Rosalkj SB, Foo AY, Burlina A, et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. Clin Chem 1993; 39: 648-652.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
5. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Press, 1997.
6. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.
7. Haussament T.U. et. Al. Clin. Chem. Acta 35. 271-273 (1977).