

Αντιδραστήριο Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP)

Ρυθμιστικό Διάλυμα AMP (IFCC)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

Σταθερότητα	: 30 ημέρες στους 2-8°C
Γραμμικότητα	: Έως και 1000 U/L (16,7 μkat/L)
Τύπος Δοκιμίου	: Ορός ή Πλάσμα
Μέθοδος	: Κινητική
Προετοιμασία αντιδραστήριου	: Προσθήκη καθορισμένης ποσότητας του ρυθμιστικού διαλύματος.

ΣΥΜΒΟΛΑ ΣΤΗΝ ΕΠΙΣΗΜΑΝΣΗ ΤΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟ

EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος		Περιορισμός θερμοκρασίας
IVD	Προοριζόμενο για διάγνωση in vitro		Χρήση μέχρι/ημερ/νια λήξης
LOT	Αριθμός παρτίδας		ΠΡΟΣΟΧΗ: Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
REF	Αριθμός Καταλόγου		Κατασκευασμένο από
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
REAG A	Αντιδραστήριο A	REAG B	Αντιδραστήριο B

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το αντιδραστήριο αυτό προορίζεται για τον in vitro ποσοτικό προσδιορισμό της ALP (Φωσφοδολάση Ορθοφωσφορικών Μονοεστέρων, Αλκαλικά Βέλτιστη, EC 3.1.3.1), σε ανθρώπινο ορό ή πλάσμα.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΗΤΑ¹

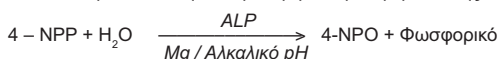
Η ανθρώπινη ALP αποτελείται από μία ομάδα ενζύμων (τουλάχιστον 5) που υδρολύουν τα φωσφορικά άλατα σε αλκαλικό pH (6-8). Η ALP βρίσκεται πρακτικά σε όλους τους ιστούς του σώματος αλλά μεγάλες συγκεντρώσεις βρίσκονται στις οστεοβλάστες του οστού, το ήπαρ, τον πλακούντα, το νεφρό, το εντερικό τοίχωμα και τους γαλουχούντες μαστικούς αδένες. Σε ενήλικες η ALP που φυσιολογικά βρίσκεται να κυκλοφορεί στον ορό προέρχεται κυρίως από το ήπαρ. Στα παιδιά ή σε εφήβους που βρίσκονται στο ξέσπασμα της εφηβικής ανάπτυξης υπάρχει μία επιπρόσθετη συμβολή από τα οστά και το γεγονός αυτό αποτελεί την αιτία για το μεγαλύτερο διάστημα αναφοράς για τις ομάδες αυτές. Η εγκυμοσύνη επίσης αυξάνει τις φυσιολογικές τιμές της ALP.

Αυξημένες τιμές ALP παρατηρούνται συχνά σε οστική νόσο ή ηπατική νόσο που εμπλέκει τις χοληφόρες οδούς. Αν η πηγή του ισοενζύμου δεν είναι προφανής τότε η εκτίμηση της γ-GT μπορεί να βοηθήσει στη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο νόσων. Μία αυξημένη γ-GT υπό την παρουσία αυξημένης ALP υποδεικνύει ότι το ήπαρ είναι η πρωτογενής πηγή. Αυξημένη ALP (συνήθως με κανονική γ-GT) εμφανίζεται στην Οστεομαλάκυνση και τη Ραχίτιδα, τον πρωτογενή υπερπαραθυρεοειδισμό με εμπλοκή του οστού, τη νόσο του Paget, το δευτερογενές καρκίνωμα στο οστό και σε μερικές περιπτώσεις οστεογενούς σαρκώματος. Αυξημένα επίπεδα ALP (συνήθως με αυξημένη γ-GT) εμφανίζεται στη χολόσταση, την ηπατίτιδα, την κίρρωση, αλλοιώσεις κατάληψης κάποιου χώρου και κακοήθειες με οστική ή ηπατική συμμετοχή ή άμεση παραγωγή. Χαμηλές τιμές ALP μπορούν να παρατηρηθούν σε καταστάσεις που προκαλούν διακοπή της οστικής ανάπτυξης ή σε υποφωσφαταιμία.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Αυτή η μέθοδος Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP) βασίζεται στις συστάσεις της Διεθνούς Ομοσπονδίας Κλινικής Χημείας (IFCC)².

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί 4-νίτροφαινόλοφωσφορικό ως υπόστρωμα. Κάτω από τις βελτιστοποιημένες συνθήκες η ALP που είναι παρούσα στο δείγμα καταλύει την ακόλουθη αντίδραση τρανσφωσφορυλίωσης.



Στο pH της αντίδρασης το 4-νίτροφαινόξείδιο έχει ένα έντονο κίτρινο χρώμα. Το αντιδραστήριο περιέχει επίσης ένα ρυθμιστικό σύστημα μεταλλοϊόντος για την επιβεβαίωση ότι διατηρούνται οι βέλτιστες συγκεντρώσεις Ψευδαργύρου και Μαγνησίου. Το ρυθμιστικό μεταλλοϊόν μπορεί επίσης να σχηματίσει χηλικές ενώσεις με άλλα δυννηκώς ανασταλτικά ιόντα τα οποία μπορεί να είναι παρόντα. Η αντίδραση παρακολουθείται μετρώντας το ρυθμό αύξησης της απορρόφησης στα 405 nm ο οποίος είναι ανάλογος με την ενεργότητα της ALP στον ορό.

Συντμήσεις

4-NPP = 4-Νίτροφαινόλοφωσφορικό
4-NPO = 4-Νίτροφαινόξείδιο
AMP = 2-Αμινο-2-μέθυλο-1-πυροπυρίνη
ALP = Αλκαλική φωσφατάση

ΣΥΝΘΕΣΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

Ενεργά Συστατικά

Αντιδραστήριο A:

4-NPP

Πυκνότητα

16,3 mmol/L

Αντιδραστήριο B:

AMP

Οξικό Μαγνήσιο

ZnSO₄

HEDTA

pH 10,7 ± 0,1 στους 20°C

420 mmol/L

2,4 mmol/L

1,2 mmol/L

2,4 mmol/L

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ:

Μην καταπίνετε. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Ξεπλύνετε τα μέρη του σώματος με τα οποία έχει έρθει σε επαφή με νερό. Για περαιτέρω πληροφορίες συμβουλευτείτε το Δελτίο Ασφαλείας Υλικού του Αντιδραστήριου ALP-AMP (IFCC). Η Συσκευασία του Προϊόντος αυτού Περιέχει Ξηρό Φυσικό Ελαστικό. Εκτελείτε με προσοχή το χειρισμό πτυχώσεων και φιαλιδίων θραυσμένης υάλου, καθώς οι αιχμηρές άκρες μπορεί να προκαλέσουν τραυματισμό του χρήστη.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

Ανασυστήστε το Αντιδραστήριο A με τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος, Αντιδραστήριο B, που υποδεικνύεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμίξτε ελαφρά μέχρι τη διάλυση.

ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ

Προ της χρήσης:

Εφόσον φυλαχτεί σε ψυγείο στους 2-8°C το αντιδραστήριο είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη φιάλη και τη συσκευασία.

Ανασυσταμένο Αντιδραστήριο:

Όταν φυλάσσεται ψυγασμένο στους 2-8°C, το αντιδραστήριο είναι σταθερό για τουλάχιστον 30 ημέρες.

Ενδείξεις Φθοράς του Αντιδραστήριου:

- Θολότητα,
- Απορρόφηση >0,8 στα 405nm (1cm), και/ή
- Αδυναμία ανάκτησης των τιμών ελέγχου εντός των οριζόμενων ορίων.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ²

Ορός: Χρησιμοποιείτε μη αιμολυμένο ορό.

Πλάσμα: Χρησιμοποιείτε ηπαρίνη. Μη χρησιμοποιείτε EDTA, Οξαλικά ή Φθοριοχά.

Φύλαξη: Η ενεργότητα της ALP σε φυλασσόμενο ορό αυξάνει με το χρόνο. Η αύξηση στην ενεργότητα του φυλασσόμενου ορού σε θερμοκρασία δωματίου είναι ελάχιστη για μέχρι και 4 ώρες. Η αύξηση στην ενεργότητα, ορό που έχει φυλαχθεί στους 2-8°C ή που έχει καταψυχθεί, μετά τη θέρμανση είναι σημαντική. Ο ρυθμός της αύξησης αυτής εξαρτάται τόσο από τη θερμοκρασία όσο και από το χρόνο.

ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΟΡΓΑΝΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Αν απαιτούνται, πιπέτες για την ακριβή διανομή των μετρούμενων όγκων.
- Κλινικός χημικός αναλυτής με δυνατότητα διατήρησης σταθερής θερμοκρασίας (37°C) και μέτρησης απορροφητικότητας στα 405 nm.
- Αναλώσιμα για τον αναλυτή (π.χ. δοχεία δειγμάτων)
- Ανώμαλο και κανονικό υλικό ελέγχου δοκιμίων.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Συνιστώνται οι ακόλουθες παράμετροι για το σύστημα. Διατίθενται μεμονωμένες εφαρμογές οργάνων μετά από αίτημα στο Τμήμα Τεχνικής Υποστήριξης.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Θερμοκρασία	30/37°C
Πρωτογενές μήκος κύματος	405 nm (405-420 nm)
Δευτερογενές μήκος κύματος	660nm (600 - 660nm)
Τύπος Προσδιορισμού	Ρυθμού/Κινητικός
Κατεύθυνση	Αύξηση
Αναλογία Δείγματος : Αντιδραστήριου	1 : 50
π.χ.: Όγκος δείγματος	4 μL
Όγκος αντιδραστήριου	200 μL
Χρόνος υστέρησης	60 δευτερόλεπτα
Χρόνος ανάγνωσης	120 δευτερόλεπτα
Τυφλά Όρια Αντιδραστήριου	Χαμηλά 0,0 AU
(405 nm, οπτική διαδρομή 1cm)	Υψηλά 0,8 AU
Γραμμικότητα	Έως και 1000 U/L (16,7 μkat/L)
(ανατρέξτε στην παράγραφο γραμμικότητας)	
Αναλυτική Ευαισθησία	0,37 ΔmA/λεπτό ανά U/L
(405 nm, οπτική διαδρομή 1cm)	(22 ΔmA/λεπτό ανά μkat/L)

ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Τα αποτελέσματα υπολογίζονται συνήθως αυτόματα από το όργανο, ως ακολούθως:

Ενεργότητα σε U/L = ΔAbs/λεπτό x Παράγοντας

$$\text{Παράγοντας} = \frac{\text{TV} \times 1000}{18,8 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Όπου:

- TV = Ολικός όγκος της αντίδρασης σε mL
SV = Όγκος του δείγματος σε mL
18,8 = χιλιοστογραμμοριακός συντελεστής απορρόφησης του 4-νιτροφαινόλης στα 405 nm
P = Μήκος διαδρομής της κυψελίδας σε cm.

Παράδειγμα:

- ΔAbs/min = 0,075
Παράγοντας = 2713
ALP = 0,075 x 2713 = 203 U/L

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Οι όγκοι του αντιδραστήριου και του δείγματος μπορούν να μεταβληθούν ανάλογα για να προσαρμοστούν στις απαιτήσεις διαφορετικών φασματοφωτομέτρων.
- Αν η μεταβολή στην απορρόφηση είναι μεγαλύτερη από 0,37 AU/λεπτό, αραιώστε με αλατούχο διάλυμα και επαναλάβετε τον ποσοτικό προσδιορισμό. Πολλαπλασιάστε το τελικό αποτέλεσμα με τον παράγοντα αραιώσεως.
- Τα έγκυρα αποτελέσματα εξαρτώνται από την ακριβή βαθμονόμηση των οργάνων, το χρονισμό και τον έλεγχο της θερμοκρασίας.
- Μετατροπή μονάδων: U/L x 16,67 x 10⁻³ = μkat/L.

ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ

Δεν απαιτείται. Ο ρυθμός της αντίδρασης μετατρέπεται σε U/L δραστηριότητα με ένα παράγοντα υπολογισμού. Ανατρέξτε στην παράγραφο υπολογισμών του παρόντος ένθετου συσκευασίας.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Για να επιβεβαιωθεί ο επαρκής ποιοτικός έλεγχος, θα πρέπει να αναλυθούν φυσιολογικά και μη φυσιολογικά υλικά ελέγχου ως άγνωστα δείγματα:-

- Τουλάχιστον μία φορά την ημέρα ή όπως έχει καθιερωθεί από το εργαστήριο.
- Όταν χρησιμοποιείται καινούργια φιάλη αντιδραστήριου.
- Αφού εκτελεστεί προληπτική συντήρηση του οργάνου ή αν αντικατασταθεί κάποιος κρίσιμος εξάρτημα.


Αποτελέσματα υλικών ελέγχου που βρίσκονται άνω του μέγιστου ορίου και κάτω του κατώτερου ορίου του καθιερωμένου εύρους υποδεικνύει ότι ο προσδιορισμός μπορεί να είναι εκτός ελέγχου.

Σε τέτοιες περιπτώσεις συνιστώνται οι ακόλουθες διορθωτικές κινήσεις:

- Επαναλάβετε την ανάλυση των ίδιων υλικών ελέγχου.
- Αν τα επανειλημμένα αποτελέσματα των υλικών ελέγχου είναι εκτός ορίων, παρασκευάστε νέο ορό ελέγχου και επαναλάβετε την εξέταση.
- Αν τα αποτελέσματα στο πρόσφατο υλικό ελέγχου παραμένουν ακόμα εκτός των ορίων, τότε επαναλάβετε την εξέταση με πρόσφατο αντιδραστήριο.
- Αν τα αποτελέσματα παραμένουν ακόμα εκτός ελέγχου, επικοινωνήστε με τις Τεχνικές Υπηρεσίες ή τον Τοπικό σας Διανομέα.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ

- Διεξήχθησαν μελέτες για τον προσδιορισμό του επιπέδου παρεμπόδισης από αιμοσφαιρίνη, χολερυθρίνη και λιπαιμία σε ένα αυτοματοποιημένο αναλυτή κλινικής χημείας. Λήφθηκαν τα ακόλουθα αποτελέσματα:
Αιμοσφαιρίνη: Καμία παρεμπόδιση από αιμοσφαιρίνη έως και 500 mg/dL.
Χολερυθρίνη: Καμία παρεμπόδιση από χολερυθρίνη έως και 340 μmol/L (20 mg/dL).
Λιπαιμία: Καμία παρεμπόδιση από λιπαιμία, μετρούμενη ως τριγλυκερίδια, έως και 4 mmol/L (360 mg/dL).
- Ο Young DS³ δημοσίευσε έναν εκτενή κατάλογο φαρμάκων και ουσιών που μπορεί να παρεμποδίζουν με τον προσδιορισμό αυτό.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK
840332 (R1)



ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Στους 37°C	20-50 Y	Αντρες:	53 - 128 U/L (0,90 - 2,13 μkat/L)
		Γυναίκες:	42 - 98 U/L (0,70 - 1,63 μkat/L)
	≥60 Y	Αντρες:	56 - 119 U/L (0,93 - 1,98 μkat/L)
		Γυναίκες:	53 - 141 U/L (0,90 - 2,35 μkat/L)
Στους 30°C	20-50 Y	Αντρες:	30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 μkat/L)
		Γυναίκες:	20 - 80 U/L (0,33 - 1,33 μkat/L)
	≥60 Y	Αντρες:	30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 μkat/L)
		Γυναίκες:	40 - 110 U/L (0,67 - 1,85 μkat/L)

Οι αναφερόμενες τιμές είναι αντιπροσωπευτικές για το αναμενόμενο εύρος για τη μέθοδο αυτή και θα πρέπει να εξυπηρετούν ως οδηγός και μόνο. Συνιστάται κάθε εργαστήριο να επιβεβαιώνει το εύρος αυτό ή να δημιουργεί ένα διάστημα αναφοράς για τον πληθυσμό που εξυπηρετεί.⁴

ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Τα ακόλουθα δεδομένα λήφθηκαν χρησιμοποιώντας το Αντιδραστήριο ALP-AMP (IFCC) σε ένα καλά διατηρούμενο αυτόματο αναλυτή κλινικής χημείας. Οι χρήστες θα πρέπει να επιβεβαιώνουν την απόδοση του προϊόντος στο συγκεκριμένο αναλυτή που χρησιμοποιούν.

ΑΝΑΚΡΙΒΕΙΑ

Η ανακρίβεια αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας δύο επίπεδα υλικού ελέγχου του εμπόριου και ακολουθώντας την διαδικασία NCCLS EP5-T⁵.

Εντός διαδρομής:	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II
Αριθμός Δεδομένων	80	80
Μέσος όρος (U/L / μkat/L)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD (U/L / μkat/L)	1,9 / 0,032	5,0 / 0,083
CV (%)	2,0	1,2

Σύνολο:	ΕΠΙΠΕΔΟ I	ΕΠΙΠΕΔΟ II
Αριθμός Δεδομένων	80	80
Μέσος όρος (U/L / μkat/L)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD (U/L / μkat/L)	3,6 / 0,060	11,9 / 0,198
CV (%)	3,9	2,8

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Διεξήχθησαν συγκριτικές μελέτες χρησιμοποιώντας ένα παρόμοιο εμπορικό διαθέσιμο αντιδραστήριο ALP ως αναφορά. Δείγματα ορού και πλάσματος (Ηπαρίνη) προσδιορίστηκαν παράλληλα και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με παλινδρόμηση ελαχίστων τετραγώνων. Λήφθηκαν τα ακόλουθα στατιστικά.

Αριθμός ζευγών δειγμάτων	60
Εύρος αποτελεσμάτων δειγμάτων	13 - 1241 U/L (0,217 - 20,7 μkat/L)
Μέσος όρος αποτελεσμάτων της μεθόδου αναφοράς	110 U/L (1,83 μkat/L)
Μέσος όρος αποτελεσμάτων ALP-AMP	125 U/L (2,08 μkat/L)
Κλίση	1,16
Τομή στον άξονα των ψ	-2,24 U/L (0,037 μkat/L)
Συντελεστής Συσχέτισης	1,000

ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

Όταν η εκτέλεση γίνεται όπως συνιστάται, ο προσδιορισμός είναι γραμμικός έως και 1000 U/L (16,7 μkat/L).

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Όταν εκτελείται όπως συνιστάται η ευαισθησία του προσδιορισμού αυτού είναι 0,37 ΔmA/λεπτό ανά U/L (22 ΔmA/λεπτό ανά μkat/L).

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Zilva JF, Pannal PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd London 1979: Chap 15 343.
- IFCC method for the measurement of ALP J Clin Chem Clin Biochem 1983: 21:731-48.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990: 3: 19-25.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- Kennedy JW et al: User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices 1989: NCCLS Vol 4, No 8: 185-95.

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Πληροφορίες για Παραγγελίες

Αρ. Καταλόγου.

	REAG A	REAG B
TR11110/1140-200	20 x 10 mL	1 x 200 mL
TR11115	20 x 20 mL	2 x 200 mL
TR11103/1140-500	10 x 50 mL	1 x 500 mL
TR11104	10 x 200 mL	4 x 500 mL