

ALKALNA FOSFATAZA

Ref: AFA-250

UPOTREBA

Reagens se koristi za određivanje aktivnosti alkalne fosfataze (AF) u serumu ili plazmi.

METODA

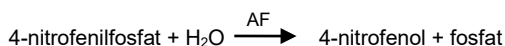
IFCC kinetički, kolorimetrijski metod sa AMP puferom.

KLINIČKI ZNAČAJ

Humana alkalna fosfataza (AF, EC.3.1.3.1) se sastoji od najmanje pet tkivno specifičnih izoenzima koji katalizuju hidrolizu fosfatnih monoestara u alkalnoj sredini. Određivanje AF je značajno za dijagnozu oboljenja jetre, naročito bilijarnog trakta, kada se značajno povećava katalitička aktivnost AF. Nivo AF se povećava i kod hepatitisa, toksičnog dejstva nekih lekova, malignih oboljenja jetre i kostiju i nekih drugih oboljenja. Nivo AF u plazmi se snižava u nedostatku vitamina C i kod nekih poremećaja razvoja organizma.

PRINCIP ODREĐIVANJA

Alkalna fosfataza (AF), u baznoj sredini (2-amino-2-metil-1-propanol - AMP pufer), katalizuje reakciju hidrolize 4-nitro-fenilfosfata do 4-nitrofenola¹⁻⁴. Aktivnost AF se određuje merenjem promena apsorbancije žuto obojenog anjona 4-nitrofenola na 405 nm:



REAGENSI

Alkalna fosfataza AMP, Ref: AFA-250 se sastoji od 2 reagensa:

Reagens 1 (Rg.1)	2 x 100 mL
Reagens 2 (Rg.2)	1 x 50 mL

SASTAV REAGENSA

Aktivne komponente :

AMP pH 10.4	0,5 mol/L
Mg(II)	2,5 mmol/L
Zn(II)	1,2 mmol/L
HEDTA	2,5 mmol/L
4-nitrofenilfosfat	16 mmol/L
Stabilizatori	

UPOZORENJE

- Koristiti isključivo za dijagnostiku *in vitro*.
- Voditi računa o propisanoj eliminaciji otpada. Ako se odbacuje u kanalizaciju, isprati velikom količinom vode.
- Da bi se izbegla kontaminacija koristiti čist pribor ili laboratorijsku opremu za jednokratnu upotrebu.

PRIPREMA REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens se priprema mesanjem 4 zapremine Rg.1 i jedne zapremine Rg.2.

Start supstratom : Reagensi su spremni za upotrebu.

STABILNOST REAGENSA

Start uzorkom : radni reagens stabilan je 30 dana ako se čuva na 2 - 8°C.

Start supstratom : reagensi u originalnom pakovanju su stabilni do isteka označenog roka ako se čuvaju na propisanoj temperaturi.

UZORCI

Kao uzorak koristiti nehemolizovan serum ili plazmu pripremljenu sa heparinom.

Stabilnost : 7 dana na 20-25 °C
7 dana na 4-8 °C
2 meseca na -20 °C.

DODATNI POTREBNI MATERIJALI

Opšta laboratorijska oprema i rastvori

- Multikalibrator	Ref: KLB-012	4x3 mL
- Kontrolni serum N	Ref: KSN-020	4x5 mL
- Kontrolni serum P	Ref: KSP-020	4x5 mL

ANALITIČKA PROCEDURA

Analički parametri testa:

Talasna dužina : 1°/2°	405/660 nm
Kiveta :	1 cm
Temperatura :	37° C
Odnos : uzorak / reagens	1 / 50
Reakcija :	Kinetička
Inicijalna A reagensa :	< 1,0 Abs

Start uzorkom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Radni reagens	1000 µL

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 405 nm.

Start supstratom - pipetirati u epruvete:

Uzorak	20 µL
Rg.1	800 µL

Promešati, a zatim dodati:

Rg.2	200 µL
------	--------

Promešati reakcionu smešu i inkubirati 1 minut na 37°C, izmeriti inicijalnu apsorbanciju (A₀), a zatim meriti promene apsorbancija svakog minuta u toku tri minuta (A₁, A₂, A₃) na 405 nm.

KALIBRACIJA

Za kalibraciju koristiti multikalibrator

Tip kalibracione krive : Linearan

Rekalibraciju vršiti :

- nakon promene serije reagensa
- ukoliko su dobijene vrednosti kontrola izvan prihvatljivog opsega

KONTROLA KVALITETA

Za kontrolu kvaliteta preporučuje se korišćenje kontrolnih seruma.

ALKALNA FOSFATAZA

Ref: AFA-250

IZRAČUNAVANJE

$$\Delta A_1 = A_1 - A_0 \quad \Delta A_2 = A_2 - A_1 \quad \Delta A_3 = A_3 - A_2$$

$$\Delta A = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) / 3$$

$$C = \Delta A \cdot 2742 \text{ (U/L)}$$

REFERENTNE VREDNOSTI

Odrasli	U/L	
Muskarci	40 - 129	
Žene	35 - 104	
Deca	muškarci	žene
Starosti 0-14 dana	83 - 248	83 - 248
Starosti 15 dana - 1 godine	122 - 469	122 - 469
Starosti 1-10 godina	142 - 335	142 - 335
Starosti 10-13 godina	129 - 417	129 - 417
Starosti 13-15 godina	116 - 468	57 - 254
Starosti 15-17 godina	82 - 331	50 - 117
Starosti 17-19 godina	55 - 149	45 - 87

Na referentne vrednosti utiče (pored drugih faktora) starosna struktura i etnički sastav populacije. Zato se preporučuje da svaka laboratorija odredi sopstvene referentne vrednosti.

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE TESTA

Parametri validacije su izračunati na osnovu rezultata ispitivanja na analizatorima Roche 902 i Abbott –Alcion.

Opseg merenja

Od 3 do 1400 U/L alkalne fosfataze.

Ukoliko je aktivnost AF veća od 1400 U/L, razblažiti uzorak (1+ 4) sa fiziološkim rastvorom i rezultat pomnožiti sa 5.

Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

LoD = 1 U/L

LoQ = 3 U/L

Osetljivost određivanja (S)

$S = A/c = 0,365 \Delta mAbs$ po U/L

Interferencije

Na određivanje alkalne fosfataze ne utiču:

bilirubin	$c < 400 \text{ umol/L (23,4 mg/dL)}$
hemoglobin	$c < 6,0 \text{ g/L}$
trigliceridi	$c < 22,6 \text{ mmol/L (2000 mg/dL)}$

Preciznost određivanja

Reproducibilnost unutar serije

Uzorak 1	Xsr = 97,43	Sd = 2,62	KV = 2,69 %
Uzorak 2	Xsr = 225, 29	Sd = 3,20	KV = 1,42 %

Reproducibilnost između serija

Uzorak 1	Xsr = 97,07	Sd = 2,92	KV = 3,01 %
Uzorak 2	Xsr = 225,36	Sd = 3,48	KV = 1,54 %

Korelacija

Urađena je komparativna analiza⁵ između metode firme BIOANALYTICA i komercijalnog testa druge firme na 45 uzoraka humanog seruma. Dobijeni su sledeći parametri :

Linearna regresija

$$y = 1,001 \cdot x + 0,4489$$

$$r = 0,9997$$

LITERATURA

1. N.W. Tietz et al. J Clin Chem Clin Biochem 21, 731-748, 1983.
2. B. Štraus, Medicinska Biokemija, Medicinska naklada Zagreb, 1992.
3. N.W. Tietz, Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.
4. N.W. Tietz, D.F. Shuey. Reference Intervals for Alkaline Phosphatase Activity Determined by the IFC and AACC Reference Methods. Clin Chem 32, 1593 - 1594, 1986.
5. H. Passing, W.A. Bablok, A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem and Clin Biochem 21(11), 709-720, 1983.
6. Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: Direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. Clin Biochem 2013;46:1197–1219.



Bioanalytica d.o.o.
Agostina Neta 84/2, Beograd,
Srbija
www.bioanalytica.rs



Bioscience Medical SL
Velazquez 126, 7AB,
Madrid, Spain



Broj rešenja o upisu : _____