

Alkaline Phosphatase (ALP)

اندازه گیری فسفاتاز قلیایی

اصول آزمایش:

در این روش که بر اساس پیشنهاد فدراسیون بین المللی بیوشیمیست ها (IFCC) تهیه گردیده است فعالیت آنزیم بصورت کینتیک و طبق رابطه زیر انجام میگردد.



معرفها:

4 × 80 ml

2-Amino-2-methyl-1-propanol (pH 10.4)
Magnesium acetat
Zinc sulfate
Sodium azide

معرف **R1**

1 × 80 ml

p-Nitrophenyl phosphate
Sodium azide

معرف **R2**

آماده سازی معرفها و پایداری :

معرفها در روش دو معرفه (Reagent start) آماده مصرف میباشد ولی در روش تک معرفه (Sample start) محلول آماده بکار با مخلوط کردن چهار قسمت معرف R1 با یک قسمت معرف R2 تهیه میگردد. بطور مثال ۸ میلی لیتر R1 با ۲ میلی لیتر R2 مخلوط میشود محلول آماده بکار بمدت دو هفته در دمای ۸°C و ۵ روز در دمای ۲۵°C...۱۵ پایداری میباشد. از قرار دادن محلول آماده بکار در برابر نور ممانعت گردد.

معرفها بعد از باز کردن درب ویالها تا ۲۸ روز در دمای ۸°C-۲ پایداری میباشد. از قرار دادن معرف R2 در برابر نور و آلوده شدن معرفها جلوگیری گردد.

شرایط تهیه و نگهداری نمونه :

از سرم یا پلاسما همپارینه میتوان استفاده نمود. فعالیت آنزیم در دمای ۸°C-۲ پس از ۷ روز بدون تغییر و در دمای ۲۰-۲۵°C تا ۱۰٪ کاهش می یابد.

روش انجام آزمایش :

طول موج : 405 nm , 400-420 nm
دما : 37 °C
قطر کووت : 1 cm

اندازه گیری : در مقابل هوا (افزایش جذب نوری)

الف) روش تک معرفه (sample start): قبل از شروع بکار محلول آماده بکار و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید. دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 °C) حفظ شود.

| دما | 37°C |
|---|---------|
| نمونه | 20 µl |
| محلول آماده بکار | 1000 µl |
| پس از اختلاط بمدت ۱ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه نمائید سپس جذب نوری را در دقایق ۱، ۲، ۳ قرائت کرده و میانگین آنها را محاسبه کنید. | |

ب) روش دو معرفه (reagent start): قبل از شروع بکار معرفها و کووت را تا دمای مورد نظر گرم کنید. دما در حین آزمایش باید در محدوده (± 0.5 °C) حفظ شود.

| دما | 37°C |
|---|---------|
| نمونه | 20 µl |
| معرف R1 | 1000 µl |
| پس از اختلاط بمدت ۱ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه نمائید | |
| معرف R2 | 250 µl |
| پس از اختلاط بمدت ۱ دقیقه در دمای مورد نظر انکوبه نمائید سپس جذب نوری را در دقایق ۱، ۲، ۳ قرائت کرده و میانگین آنها را محاسبه کنید. | |

محاسبه :

متوسط افزایش جذب در دقیقه $\Delta A / \text{min}$ را محاسبه و در فاکتور ضرب نمایید.

| | |
|--------------------------------------|--------|
| $U/L = \Delta A / \text{min} \times$ | 405 nm |
| Sample start | 2757 |
| Reagent start | 3433 |

محدودیت آزمایش :

در صورتیکه افزایش $\Delta A / \text{min}$ بالاتر از 0.250 یا فعالیت آنزیم بالاتر از 700 IU/L باشد 0.1 ml از نمونه را با 0.5 ml از سرم فیزیولوژی (0.9%) مخلوط نموده آزمایش را تکرار، و نتیجه را در شش ضرب کنید.

حدود طبیعی :

| دما | 37 °C |
|------------------------------|---------------|
| Children (5 to 10 years) | up to 535 U/L |
| Adolescents (11 to 16 years) | up to 375 U/L |
| Adult | 40 - 140 U/L |

کنترل کیفی :

جهت کنترل میتوان از سرم کنترل های که در آنها فعالیت آنزیم با روش IFCC تعیین شده استفاده نمود توصیه میگردد از سرم کنترل های Multicalibrator XL و Control serum P و Control serum N شرکت کیمیاپژوهان استفاده گردد.

اتوماسیون :

پارامتر دستگاههای مختلف در شرکت موجود میباشد.

هشدارهای توصیه ای :

- معرفها حاوی سدیم آزاید میباشد بنابراین از تماس آن با پوست و چشم یا دهان خودداری گردد.
- هنگام کار با محصول حتماً از دستکش استفاده شود.

Reference:

Tietz, NW et al, Clin Chem (1983) 29:75
Bowers GN, Jr. et al, Clin Chem (1980) 26:969
Selected Methods of Clinical chemistry, AACC pub.:1983
Tietz, NW, Textbook of Clinical, Saunders Pub. Co.1986

* در صورت مشاهده هرگونه مشکل در محصول لطفاً با شماره تلفن کارخانه (بخش کنترل کیفی، داخلی ۱۶) تماس حاصل فرمائید.