



# ALKALINE PHOSPHATASE (DEA Method)

REF: AP250

- موارد ایمنی کار با این معرف ها در اسناد ایمنی کیت ها (MSDS) قید شده است.
- دفع پسماند ها مطابق با قوانین تدوین شده وزارت بهداشت انجام شود.

## جمع آوری و آماده سازی نمونه

- از نمونه سرم استفاده شود.
- پایداری آنالیت در نمونه:  
دما: ۴ ساعت در دمای محیط  
دما: ۲-۸ درجه سانتیگراد ۲ روز  
دما: ۲۰- درجه سانتیگراد ۱ ماه

## تجهیزات و مواد مورد نیاز برای آزمایش

- معرف های R1 و R2
- کالیبراتور شرکت بهان طب آزما جهت کالیبره کردن و کنترل های نرمال و پاتوژن شرکت که می بایست بصورت جداگانه تهیه گردد.
- اسپکتروفوتومتر/توانالایزر
- میکرو پیپت
- سایر تجهیزات عمومی

## روش انجام آزمایش

پارامترهای دستگاهی	
طول موج	405(400-410) nm
دما	37°C
طول مسیر عبور نور	1 cm
نحوه خوانش	kinetic

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : تک معرف (R1:R2= 4:1)

معرف	بلانک	استاندارد	نمونه
1000µL	1000µL	1000µL	1000µL
آب مقطر	20µL	-	-
نمونه	-	-	20µL
استاندارد	-	20µL	-

مقادیر بالا مخلوط شده و پس از یک دقیقه انکوبه کردن در دمای 37°C جذب نمونه (AS) نسبت به جذب نمونه بلانک در طی ۳ دقیقه اندازه گیری شود.  $\Delta A/min$  اندازه گیری شود.

نسبت نمونه/استاندارد/بلانک : معرف (دو معرف)

معرف	بلانک	استاندارد	نمونه
معرف ۱ (R1)	800µL	800µL	800µL
آب مقطر	20µL	-	-
نمونه	-	-	20µL
استاندارد	-	20µL	-

مقادیر بالا مخلوط شده و یک دقیقه در دمای 37°C انکوبه شود. سپس R2 اضافه شود.

معرف	بلانک	استاندارد	نمونه
معرف ۲ (R2)	200µL	200µL	200µL

## هدف استفاده

این کیت برای اندازه گیری کمی آلکالین فسفاتاز موجود در سرم و پلاسما استفاده می شود.

## اهمیت بالینی

آلکالین فسفاتاز به گروهی از ترکیبات فسفاتاز اشاره دارد که تقریباً در هر بافتی از بدن یافت می شود. بیشتر آلکالین فسفاتاز در انسانهای بالغ در کبد و مجاری صفراوی وجود دارد. سطح آن در کودکان و نوجوانان از انسانهای بالغ بیشتر است. مردان بالغ مقدار بیشتری از زنان بالغ دارند. اما در زنان باردار میزان این ترکیب افزایش می یابد.

افزایش بیش از حد میزان آلکالین فسفاتاز در بیماران مانند هیپاتیت، سیروز، بدخیمی ها، مسمومیت شیمیایی یا در بیماری های استخوانی مثل کارسینوم متاستاتیک، راشیتیزم، بیماری پازه و استئومالاسی مشاهده می شود. افزایش کمتر آن در بیماران هورمون، نارسایی احتقانی قلب، کولیت اولسراتیو، آنتربیت منطقه ای و عفونت های باکتریایی داخل شکمی دیده می شود. میزان آلکالین فسفاتاز در دوره رشد استخوانها در کودکان و نوجوانان افزایش می یابد.

## اساس اندازه گیری

اندازه گیری ALP بر اساس روش رنگ سنجی است. آلکالین فسفاتاز در محیط قلیایی به عنوان کاتالیزور در واکنش هیدرو لیز تبدیل پارانیتر فنیل فسفات به پارانیتر فنول و فسفات عمل می کند. سرعت افزایش میزان جذب ناشی از تشکیل پارانیتر فنول مستقیماً با فعالیت ALP مرتبط است.

## معرف ها

R1	Diethanolamine	5 mol/L
	Zinc Sulfate	100 mmol/L
R2	4-Nitrophenyl Phosphate	50 mmol/L

\*معرف ها مایع و آماده مصرف می باشند.

## پایداری و شرایط نگهداری کیت

- در دمای 2-8 °C نگهداری شود.

- از قرار دادن کیت در معرض نور و آلودگی به صورت مستقیم جلوگیری شود.

- از فریز کردن معرف ها خودداری شود.

## نکات ایمنی

- معرف ها مطابق با الزامات GLP حمل و نگهداری شود.
- معرف ها حاوی سدیم آزید هستند. از بلعیدن، تماس با پوست، چشم و غشاء مخاطی پرهیز کنید. در صورت تماس با پوست حتماً با مقدار زیاد آب شسته شود. از پیپت کردن محلول با دهان خودداری شود.



# ALKALINE PHOSPHATASE (DEA Method)

REF: AP250

Inter-Assay Precision(between-run) n=20/day			
CV%	SD	میانگین	نمونه
0.24	0.41	173.59	N
0.1	0.45	461.91	H

مقادیر بالا مخلوط شده و پس از یک دقیقه انکوبه کردن در دمای 37°C جذب نمونه (AS) نسبت به جذب نمونه پلانک در طی ۳ دقیقه اندازه گیری شود.  $\Delta A/\text{min}$  اندازه گیری شود.

تمامی پارمترهای ذکر شده برای اندازه گیری دستی این تست است، برای اندازه گیری به صورت اتوماتیک متناسب با ویژگی های هر دستگاه این پارمترها ممکن است تغییر کند.

## محاسبات

$$ALP (U/l) = \frac{\Delta A_{\text{sample}}}{\Delta A_{\text{calibrator}}} * \text{concentration of calibrator}$$

$$\text{Activity(U/L)} = \Delta A/\text{min} * 2750$$

$$\text{Conversion Factor: U/L} * 0.0167 (\mu\text{kat/L})$$

## مقادیر مرجع

Men	$\leq 270 \text{ U/L}$
Women	$\leq 240 \text{ U/L}$

هرآزمایشگاه باید دامنه مرجع مختص به خود را با توجه به جامعه آماری بیمارانش تعیین کند. برای اهداف تشخیصی نتایج ALP باید تاریخچه پزشکی بیمار، آزمایشات و دیگر یافته ها بطور همزمان بررسی شود.

## پارامترهای کارایی کیت

۱- دامنه خطی بودن (Dynamic Range)

20-1200 U/L

-در نمونه های با غلظت بالاتر، نمونه با محلول 0.9 % NaCl با نسبت ۱:۱۰ رقیق شود.

۲- حساسیت (Sensitivity)

- حساسیت (کمترین حد اندازه گیری در محدوده دامنه خطی): 20 U/L

۳- دقت (Precision)

-اینترآسی-تکرارپذیری

برای اندازه گیری دو نمونه در دو محدوده غلظتی (Normal-High) انتخاب و ۲۰ بار اندازه گیری شد.

Intra-Assay Precision(within-run) n=20			
CV%	SD	میانگین	نمونه
0.78	1.40	179.39	N
0.71	3.27	460.93	H

- اینترآسی-دقت

دو نمونه در دو سطح غلظتی متفاوت (Normal-High) در سه روز متوالی هر روز ۲۰ بار اندازه گیری شد.

۴- صحت (مقایسه روش ها)

مقایسه ای بین کیت شرکت بهان با یکی از کیت های معتبر بازار بر روی ۶۰ نمونه نتایج زیر بدست آمد.

ضریب همبستگی (R): ۰.۹۹۷

$$y=1.002x + 4.5033$$

۵- بررسی تداخلات احتمالی

آنالیت های زیر درمقادیر ذکر شده، تداخلی در آزمایش نشان نمی دهند.

Bilirubin	$\leq 25\text{mg/dl}$
Triglycerides	$\leq 1000\text{mg/dl}$
Ascorbic Acid	$\leq 20\text{mg/dl}$
Hemoglobin	$\leq 500\text{mg/dl}$

کنترل کیفیت

هر بار که کیت استفاده می شود باید با نمونه های کنترل تست شود. هر آزمایشگاه باید مقادیر میانگین انحراف استاندارد مورد قبول خود را جهت مقایسه تهیه کند.

## منابع

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
- King EJ, Armstrong AR. Can Med Assoc J 1934; 31: 376.
- Ohmori Y. Enzymologia 1937; 4: 217.
- Bessey OAH et al. J Biol Chem 1946; 164: 321.
- Hausamen TU et al. Clin Chem Acta 1967; 15: 241.