



مواد و تجهیزات مورد نیاز برای انجام آزمایش:

- کالیبراتور و کنترل
- سرم فیزیولوژی
- دستگاه اتوآنالایزر یا فوتومتر

شرایط آزمایش:

- طول موج مناسب: ۴۰۵ نانومتر (۴۰۰-۴۲۰)
- دمای مناسب: ۳۷ °C

شرایط و پایداری نمونه:

- نمونه مناسب، سرم یا پلاسما حاوی هپارین می باشد.
- همولیز و لیپمیک شدید نمونه باعث ایجاد خطا در نتایج می گردد.
- نمونه و ریجنتها دور از نور قرار گرفته و نمونهها در کمترین زمان آنالیز گردند.
- رعایت ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی به کسب نتایج بهتر کمک می کند.
- برای نگهداری در ۲۰ °C - حتماً دقت داشته باشید که نمونه بلافاصله فریز گردد.
- نمونهها به مدت ۷ روز در دمای ۸-۲ °C و یک ماه در دمای ۲۰ °C - پایدار می باشند.
- از آلوده شدن نمونهها جلوگیری شود.

نحوه آماده سازی ریجنتها:

**ریجنتها به صورت آماده قابل استفاده هستند.

احتیاط و نکات ایمنی:

- از بلعیدن و تماس مستقیم با پوست خودداری گردد.
- در صورت تماس با چشم با آب فراوان شسته شود.
- این کیت صرفاً برای استفاده توسط پرسنل واجد شرایط آزمایشگاه طراحی شده است.
- در مورد چگونگی دور ریختن مواد طبق قوانین تدوین شده در آزمایشگاه عمل شود.

روش انجام آزمایش:

- (۱) دستگاه فوتومتر را روشن نموده و طول موج مناسب را انتخاب کنید.
- (۲) ریجنت ۱ را با ریجنت ۲ به نسبت ۴ (R₁) به علاوه ۱ (R₂) مخلوط کنید.
- (۳) درون کووت های مجزا 1000 µl ریجنت مخلوط شده را بریزید.
- (۴) دستگاه فوتومتر را توسط معرف بلانک صفر نمایید.

کیت تشخیص کمی آلکالین فسفاتاز دی آزما طب

محتویات کیت: Reagent 1 (4 x 80 ml)

Reagent 2 (1 x 80 ml)

کاربرد: تعیین کمی ALP در سرم و پلاسما حاوی هپارین در آزمایشگاه های بالینی

مقدمه: فسفاتازهای قلیایی (آلکالین فسفاتاز) گروهی از هیدرولازها هستند که در لایه خارجی غشاء سلولی قرار داشته و گروه فسفات برخی مولکولها مانند پروتئینها، نوکلئوتیدها و آلکالوئیدها را هیدرولیز کرده و در فضای بین سلولی آزاد می کنند. بافت های مختلف بدن، سازندهی فرم های متمایزی از ALP بوده که ایزوآنزیم نامیده می شوند. چون این آنزیمها در محیط قلیائی فعال ترند بنام آلکالین فسفاتاز نامیده شده اند. این آنزیم در کبد و استخوان به میزان زیاد یافت می شود، اما در بافت های دیگر مانند کلیه، جفت، جدار روده، غده تیموس، ریه و بیضه نیز وجود دارد. به طور فیزیولوژیک مقدار آلکالین فسفاتاز سرم، در کودکان در حال رشد و در دوران بارداری و به طور پاتولوژیک در ضایعات استخوانی و کبدی افزایش می یابد، مواردی از قبیل سیروز اولیه، انسداد مجاری صفراوی، یرقان های انسدادی، کیست و آبسه کبدی، عفونت های هیپاتیتی، بیماری های استخوانی شکستگی های در حال بهبود و مواردی که فعالیت استتوبلاستها افزایش می یابد مانند بیماری های پازه، راشیتیس، نرمی استخوان و هایپرپاراتیروئیدسم افزایش می یابد. پایین بودن آلکالین فسفاتاز، به ندرت رخ می دهد، در این موارد بهتر است که بیمار از نظر کمبود روی و منیزیم، سوء تغذیه و کم کاری تیروئید مورد بررسی قرار گیرد.

اساس آزمایش: DGKC

$$\text{P-Nitrophenylphosphate} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{ALP}} \text{Phosphate} + \text{P-Nitrophenol}$$
 سرعت انجام واکنش با میزان آلکالین فسفاتاز موجود در نمونه متناسب است.

اجزا و غلظت معرفها:

Reagent	concentration
Reagent 1:	
Diethanolamine	≤90 mol/l
Magnesium chloride	≤ 1 mmol/l
Reagent 2:	
P-Nitrophenylphosphate	14 mmol/l

پایداری و نگهداری محصول:

* در دمای ۸-۲ °C تا تاریخ انقضا درج شده بر روی محصول قابل استفاده می باشد.
* یخزدگی، قرار گرفتن در معرض نور، گرمای نامتعارف و آلودگی، باعث ناپایداری محتویات کیت می گردند.

ALP Quantitative Assay Kit

Model: DGKC - 400 ml - Ref:1102

عوامل مداخله گر

جهت بررسی احتمال تداخل آنالیت‌های موجود در سرم بر روی تست ALP، سرم‌های دارای مقادیر مختلف آنالیت‌های زیر مورد آزمون قرار گرفتند و تا غلظت‌های ذکر شده، این آنالیت‌ها هیچ‌گونه تأثیر مداخله‌گرانه‌ای بر نتایج این تست نداشتند.

- تری گلیسرید: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 2000 mg/dL
- بیلی‌روبین: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 40 mg/dL
- اسید آسکوربیک: عدم تداخل معنی‌دار تا غلظت 30 mg/dL
- فلوراید، اگزالات، سیترات و EDTA مانع فعالیت ALP می‌شوند و نباید به‌عنوان ماده ضد انعقاد استفاده شوند.
- همولیز شدید باعث ایجاد تداخل در آزمایش می‌شود.

استفاده در دستگاه اتوآنالایزر: این کیت برای استفاده با طیف وسیعی از دستگاه‌های سنجش بیوشیمی مناسب می‌باشد.

نکات:

- (۱) فوتومتر با بلانک هوا روی صفر تنظیم شود.
- (۲) اعدادی که به‌عنوان دامنه مرجع ارائه گردیده فقط به‌عنوان یک راهنما مورداستفاده قرار می‌گیرد. نتایج به‌دست‌آمده توسط هر آزمایشگاه ممکن است برای هر اقلیم و منطقه و در شرایط خاص قابل‌تغییر باشد.
- (۳) جهت کالیبراسیون و کنترل کیفی، توصیه می‌شود از کالیبراتور و سرم کنترل‌های شرکت دی‌آزما طب استفاده شود. همچنین امکان استفاده از کالیبراتور و سرم کنترل‌های سازگار با روش کیت از منابع معتبر موجود در کشور نیز وجود دارد.
- (۴) حجم معرف‌ها و نمونه را می‌توان به‌تناسب تغییر داد تا با هر نوع دستگاه سنجش بیوشیمی قابل خوانش باشد.

مراجع:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics.
2. Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd Edition W.B Saunders, 1987.
3. Laker, M. F., Clinical biochemistry. 1996
4. CLSI/NCCLS Evaluation Protocol, EP5-A, 1999

نشانه‌ها:

هشدار	⚠	شرایط نگهداری ۲-۸ درجه سلسیوس	⚡
تاریخ انقضاء	🕒	شماره‌ساخت	LOT
تاریخ تولید	📅	دستورالعمل استفاده	📖
قابل مصرف در آزمایشگاه	IVD	تولیدکننده	🏭
		شماره‌کاتالوگ	REF

(۵) کالیبراتور / کنترل و یا نمونه بیمار را به میزان 15 µl مخلوط نموده و پس از ۱ دقیقه، جذب نوری را قرائت کنید. بلافاصله کرنومتر را راه‌اندازی نمایید. در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه بعد نیز جذب نوری را ثبت کرده و اختلاف جذب نوری بین قرائت‌ها را محاسبه نمایید.

محاسبات:

مقدار اختلافات جذب نوری را باهم جمع نموده و بر عدد ۳ تقسیم کرده و میانگین به‌دست‌آمده را در عدد ۳۳۰۰ ضرب نمایید.

توجه: این فاکتور بر اساس فوتومتر استاندارد بوده و در فوتومترها و اتوآنالایزرهای مختلف می‌تواند متفاوت باشد.

دامنه مرجع:

مردان	زنان	کودکان تا ۱۵ سال
80-306 U/L	64-306 U/L	180-1200 U/L

مقادیر نرمال ALP ممکن است از آزمایشگاهی به آزمایشگاه دیگر متفاوت باشد لذا هر آزمایشگاه باید محدوده‌های مرجع را برای بیماران خود تهیه کند.

نتایج عملکردی و کارایی کیت:

خطی بودن: با این روش مقدار ALP تا ۹۵۰ U/L خطی اندازه‌گیری می‌شود.

نمونه‌های با غلظت بالاتر از ۸۵۰ U/L را به نسبت ۱ واحد نمونه با ۹ واحد سرم فیزیولوژی رقیق نموده و جواب‌ها را در عدد ۱۰ ضرب نمایید.

حساسیت: حداقل مقدار قابل‌اندازه‌گیری ۳ U/L می‌باشد.

دقت: تکرارپذیری با استفاده از نمونه‌های انسانی تعیین و نتایج زیر به دست آمد:

ALP mean (U/L)	Within-run (CV%)	Between-run (CV%)
147	0.66	1.33
334	0.94	0.92
	n ¹ = 20 replicate	n ¹ = 4 runs

مقایسه روش‌ها:

در مقایسه انجام‌شده جهت ارزیابی کیت ALP شرکت دی‌آزما طب (Y) با یکی از متداول‌ترین کیت‌های ALP با متد یکسان (X) بر روی ۴۴ نمونه بیمار نتیجه زیر به دست آمد:

$$Y=1.0011X - 0.5687, \quad r^2=1$$