

الفوسفاتاز الحامضة

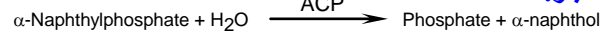
Acid phosphatase

طريقة لونية حركية

كاشف مسحوق مجفف

<b>Cat. No. 13011</b>	R1	3 powder for	5 ml
من أجل 15 تحليل	R2	1 X	15 ml
	R3	1 X	1 ml
	R4	1 X	1 ml

مبدأ الاختبار:



تشطر الفوسفاتاز الحامضة مركب  $\alpha\text{-Naphthylphosphate}$  لتعطي الفوسفات و  $\alpha\text{-naphthol}$  الذي يتفاعل بسرعة مع Fast Red TR ليعطي صبغاً يقاس عند طول موجة 405 نانومتر. معدل الازدياد في الامتصاصية اللونية تتناسب مع فعالية الفوسفاتاز الحامضية في العينة. عند اضافة L-tartrate إلى العينة تثبت الفوسفاتاز الحامضة الموثية المنشأ في حين تتفاعل الفوسفاتاز الحامضة من المصادر الأخرى. لذلك يجري التحليل مع وجود و بدون L-tartrate الفرق بين النتيجتين يساوي فعالية الفوسفاتاز الحامضة الموثية المنشأ في العينة.

تركيب الكاشف:

<b>Reagent R1(after reconstitution)</b>		
Fast Red TR (2-amino-5-chlorotoluene-1,5-naphthalene disulphonate)	1.6	mmol/L
$\alpha\text{-Naphthylphosphate}$	12	mmol/L
<b>Reagent R2</b>		
Citrate buffer pH=5.3	1.0	mmol/L
<b>Reagent R3</b>		
Buffer pH=5.3		
Sodium L-tartrate	200	mmol/L
<b>Reagent R4: ACP stabilizer</b>		
Acetate buffer pH=5.0	5	mol/L

ثباتية الكاشف و تحضير محلول العمل:

الكاشف R1: مسحوق مجفف.

الكاشف R2: سائل.

الكاشف R3: سائل جاهز للعمل.

الكاشف R4: سائل جاهز للعمل.

كل الكواشف ثابتة خلال فترة الصلاحية المثبتة على اللصاقة عند التخزين في الدرجة 2-8 °م.

**محلول العمل:** نضيف 5 ml من كاشف R2 إلى عبوة كاشف R1. نمزج بلطف لمدة 5 دقائق حتى تمام الانحلال، اعد المزج قبل كل استخدام. محلول العمل ثابت لمدة 14 يوم في الدرجة 2-8 °م.

ملاحظة:

1. محلول العمل يجب أن يكون رائق أو بلون زهري خفيف. وإذا كانت امتصاصية الكاشف بدون عينة عند طول موجة 405 نانومتر أكثر من 0.300 فيجب استبعاد الكاشف.

2. عند ظهور بلورات في الكاشف R3 (L-tartrate) سخن حتى الدرجة 40-50 °م حتى الانحلال ثم تابع العمل.

جمع العينة و حفظها:

- 1 - مصلى طازج غير منحل هو الاختيار الأفضل.
- 2 - لا تستخدم الهلازما أو هيبارين أو فلوريد أو اوكزالات، تسبب حجب لفعالية الفوسفاتاز الحامضة.
- 3 - الفوسفاتاز الحامضة غير مستقرة، فهي قابلة للتغير بشكل مفرط في الوسط الطبيعي من المصل. لذلك يجب معاملة العينة كاملي:
- يجب فصل المصل عن الكريات الحمراء مباشرةً.
- أضف R4 محلول الأسيئات إلى المصل كمثبت ( $20\mu\text{l}$  إلى كل 1 ml من المصل). كما يجب أن تضاف إلى الكونترول بنفس النسبة.
- 4 - الفوسفاتاز الحامضية في المصل ثابت لمدة 8 ساعات في الدرجة 2-8 °م. و 8 أيام في الدرجة 20- °م. مع وجود المثبت.

First edition 2010

المعايرة:

MediCal U Cat .No 15011

مصل معياري عام

ضبط الجودة:

Meditrol N Cat .No 15171

مصل شاهد طبيعي

Meditrol P Cat .No 15181

مصل شاهد مرضي

الإجراء:

Hg 405nm	طول الموجة (فوتومتر)
405nm	طول الموجة (سيكتروفوتومتر)
1 cm	حجرة القياس
37 °C	درجة الحرارة
مقابل الماء المقطر أو الهواء	القياس
حركي - متزايد	التفاعل

التحليل: تحديد الفوسفاتاز الحامضة الكلية و الغير الموثية

احضن محلول العمل في الدرجة 37 °م قبل الاستخدام

غير البروستاتية	الكلية	محلول العمل
1000 $\mu\text{l}$	1000 $\mu\text{l}$	
100 $\mu\text{l}$	--	R3 (L-tartrate)
100 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$	العينة

امزج بشكل جيد و احضن مدة خمس دقائق في الدرجة 37 °م. ثم اقرأ التغير في الامتصاصية الضوئية كل دقيقة خلال خمس دقائق أخرى. احسب تغير الامتصاصية الوسطي ( $\Delta A/\text{min}$ ) مقابل الماء المقطر.

الحساب:

لحساب فعالية الفوسفاتاز الحامضة الكلية:

$$853 \times \text{العينة} \times \Delta A/\text{min} = \text{U/L} \text{ الفعالية}$$

لحساب فعالية الفوسفاتاز الحامضة الغير بروستاتية:

$$860 \times \text{العينة} \times \Delta A/\text{min} = \text{U/L} \text{ الفعالية}$$

الفوسفاتاز الحامضة البروستاتية = الكلية - الغير بروستاتية

**ملاحظة:** من المقترح لكل مخبر (بحسب كفاءة الجهاز المستخدم) أن يستخرج عامل المعايرة (F) الخاص به باستخدام محلول معايرة حسب العلاقة التالية:

$$F = \frac{\text{Conc. calibrator}}{\Delta A / \text{min Calibrator}}$$

الخطية:

حتى: 60 U/L

العينة ذات النتيجة أعلى من 40 U/L يجب أن تمدد بمحلول كلور الصوديوم 0.9% (محلول فيزيولوجي) بنسبة (2+1) و بإعادة التحليل نضرب النتيجة بـ 3.

التداخلات:

- 1 - يتداخل البيلبيروبين في التفاعل و يخفض من قيمة الفوسفاتاز الحامضية.
- 2 - المصل المنحل يحوي على كمية كبيرة من الكريات الحمر و الفوسفاتاز الحامضية لذا يجب أن لا يستخدم.
- 3 - يعطي مانع التخثر EDTA قيمة غير حقيقية عن فعالية الفوسفاتاز الحامضية.
- 4 - انظر في كتاب Young et. al من أجل جداول إضافية لتداخل المواد.

**التحذيرات:**

- 1 - تجنب تناول الكاشف.
- 2 - الكاشف محلول حمضي، تجنب أي تماس مباشر، في حال حدوث ذلك اغسل بكمية وافرة من الماء.

**المجال الطبيعي:**

2.5 – 11.7 U/L	الفوسفاتاز الحامضية الكلية
0.2 – 3.5 U/L	الفوسفاتاز الحامضية البروستاتية (الموثية)

**المراجع:**

1. Hillman, G. F., Klin. Chem. Klin. Biochem. 3:273 (1971).
2. Doe, R.P., Mellinger, G.T., and Seal, U.S.: Clin. Chem. 11:943 (1965).
3. Kaplan, L.A., Pesce, A.J., (Editors), Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation, The C.V. Mosby Co., p. 1087 (1984).
4. Young, D.S., Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, fifth edition 2000, AACC Press, Washington, D.C.