

## Alkalická fosfatáza, mod. IFCC (cz) český

Ref. č.	Obsah					
D03101B	1 x	1	L R1 +	1 x	0.25	L R2
D95564	4 x	100	mL R1 +	1 x	100	mL R2
D95565	4 x	50	mL R1 +	1 x	50	mL R2
D00523	4 x	25	mL R1 +	1 x	25	mL R2
D00524	4 x	10	mL R1 +	1 x	10	mL R2
D52911	10 x	40	mL R1 +	4 x	25	mL R2
D0402917	4 x	62.5	mL R1 +	1 x	62.5	mL R2
DA0803	5 x	40	mL R1 +	5 x	10	mL R2
DT1003	4 x	50	mL R1 +	4 x	12.5	mL R2
DK0703	4 x	50	mL R1 +	1 x	50	mL R2
DE1803	2 x	50	mL R1 +	2 x	12.5	mL R2
DB20302	4 x	50	mL R1 +	4 x	12.5	mL R2

Pouze pro profesionální in vitro diagnostické použití.

### ÚČEL POUŽITÍ

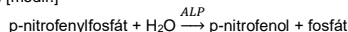
Diagnostická reagentie pro kvantitativní in vitro stanovení alkalické fosfatázy (ALP) v lidském séru nebo plazmě pomocí fotometrických systémů.

### DIAGNOSTICKÝ VÝZNAM<sup>1,2</sup>

Alkalická fosfatáza (ALP), hydrolytický enzym s maximem aktivity v alkalickém pH se v krvi vyskytuje v mnohých různých formách, které pocházejí hlavně z kostí a jater, ale i z jiných tkání jako ledviny, placenta, varlata, tymus, plíce a tumory. Fyziologicky zvýšené aktivity jsou pozorovány během růstu kostí v dětství a během těhotenství, zatímco patologicky zvýšené aktivity souvisejí většinou hepatobiliárními a kostními nemocemi. U hepatobiliárních nemocí poukazují na neprůchodnost žlučových cest, jako u cholestázy zapříčiněné žlučovými kameny, tumory nebo zápalu. Zvýšené aktivity jsou pozorovány také u infekční hepatitidy. U kostních onemocnění se zvýšené aktivity ALP vyskytují jako následek zvýšené osteoblastické aktivity, jako u Pagetovy nemoci, osteomalacie (rachitida), kostních metastáz a hyperparatyreoidismu.

### PRINCIP TESTU

Kinetický fotometrický test podle Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny (IFCC) [modif.]<sup>3</sup>



### SLOŽENÍ REAGENCIE

SLOŽKY	KONCENTRACE
<b>Reagentie 1:</b>	
2-amino-2-metyl-1-propanol, pH 10.4	1.1 mol/L
Octan hořečnatý	2 mmol/L
Síran zinečnatý	0.5 mmol/L
HEDTA	2.5 mmol/L
<b>Reagentie 2:</b>	
p-nitrofenylfosfát	80 mmol/L

### POTŘEBNÉ, ALE NEDODÁVANÉ MATERIÁLY

- Kalibrátor, např.:

REF	Název	Obsah
D98485	Diacal Auto	5 x 3 mL
D98485SV	Diacal Auto	1 x 3 mL

- Kontroly, např.:

REF	Název	Obsah	Popis
D98481	Diacon N	12 x 5 mL	Kontrola normální
D14481	Diacon N	5 x 5 mL	Kontrola normální
D98481SV	Diacon N	1 x 5 mL	Kontrola normální
D14482	Diacon P	12 x 5 mL	Kontrola abnormální
D14482	Diacon P	5 x 5 mL	Kontrola abnormální
D14482SV	Diacon P	1 x 5 mL	Kontrola abnormální

- Roztok NaCl (9 g/L)
- Fotometrický přístroj
- Obecné laboratorní vybavení

### PŘÍPRAVA REAGENCIE

#### Start substrátem:

Reagentie jsou určeny k přímému použití.

#### Start vzorkem:

Smíchejte 4 díly R1 s 1 dílem R2. (např. 20 mL R1 + 5 mL R2)

### SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Podmínky	Skladujte při 2-8 °C. Chraňte před světlem Po použití okamžitě uzavřete. Zabraňte kontaminaci Reagentie nezamrazujte
<b>Stabilita:</b>	12 měsíců od prvního otevření původní nádoby
Stabilita v přístroji:	6 dnů
Kalibrační stabilita	6 dnů
Monoreagenční stabilita	4 týdny při 2-8 °C 5 dnů při 15-25 °C
	Pracovní reagentie je potřebné chránit před světlem!

### VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Reagentie obsahují azid sodný (0.95 g/L) jako konzervant. Nepolykejte! Zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
2. V průběhu reakce vzniká p-nitrofenol, který je jedovatý po vdechnutí, požití a po styku s pokožkou. Po styku reakční směsí s pokožkou nebo sliznicemi důkladně vymyjte vodou!
3. Ve velice výjimečných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií dávat nesprávné výsledky<sup>4</sup>.
4. Viz prosím bezpečnostní list a dodržujte nutná opatření pro práci s laboratorními reagentiemi.
5. Pro diagnostické účely musí být výsledky vždy hodnoceny spolu se zdravotní historií pacienta, klinickými vyšetřeními a jinými zjištěními.
6. V případě nehody související s přístrojem ji ohlaste výrobci a vám příslušnému úřadu podle požadavků.
7. Pouze pro profesionální použití!

### ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKU

Použijte sérum nebo heparinovou plazmu. Nepoužívejte hemolytické vzorky.

Stabilita<sup>5</sup>:

7 dnů	při	20 - 25 °C
7 dnů	při	4 - 8 °C
2 měsíce	při	-20 °C

Zamrazujte pouze jednu. Kontaminované vzorky zlikvidujte.

### POSTUP TESTU

Metoda	Kolorimetrická, kinetická, mod. IFCC
Vlnová délka	Hg 405 nm, 400-420 nm
Optická dráha	1 cm
Teplota	37 °C
Měření	Oproti vzorkovému blanku. Rostoucí reakce

### Start substrátem

Pipetujte do zkumavek	Blank:	Vzorek/Kalibrátor:
Reagentie 1	1000 µL	1000 µL
Vzorek / Kalibrátor	-	20 µL
Destilovaná voda	20 µL	-
Smíchejte. Inkubujte přibližně 1 minutu. Potom přidejte:		
Reagentie 2	250 µL	250 µL
Smíchejte. Po 1 minutě změřte počáteční absorbanci a spusťte stopky. Absorbanci změřte opět po přesně 1, 2 a 3 minutách. $\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min vzorku/kalibrátoru}] - [\Delta A/\text{min blanku}]$		

### Start vzorkem 37 °C:

Pipetujte do zkumavek	Blank:	Vzorek/Kalibrátor:
Pracovní reagentie	1000 µL	1000 µL
Vzorek / Kalibrátor	-	20 µL
Destilovaná voda	20 µL	-
Smíchejte. Změřte počáteční absorbanci po 1 minutě a spusťte stopky. Absorbanci změřte opět po přesně 1, 2 a 3 minutách. $\Delta A/\text{min} = [\Delta A/\text{min vzorku/kalibrátoru}] - [\Delta A/\text{min blanku}]$		

### Automatizace

Speciální adaptace pro automatické analyzátoři mohou být vytvořeny na požádání

### INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

#### Výpočet

#### S faktorem

Z naměřených absorbancí vypočtete  $\Delta A/\text{min}$  a vynásobte příslušným faktorem z níže uvedené tabulky:

$$\Delta A/\text{min} \times \text{faktor} = \text{AP aktivita [U/L]}$$

Start substrátem	405 nm	3433
Start vzorkem	405 nm	2757

#### S kalibrátorem:

$$\text{ALP [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min vzorku}}{\Delta A/\text{min kalibrátoru}} \times \text{konc. kalibrátoru [U/L]}$$

#### Převod jednotek

$$\text{ALP [U/L]} \times 0.01667 = \text{ALP [\mu katal/L]}$$

### KONTROLA KVALITY A KALIBRACE

Doporučujeme sérové kontroly Dialab Diacon N (kontrolní sérum s hodnotami v normálním rozsahu) a Diacon P (kontrolní sérum s hodnotami v abnormálním rozsahu). Každá laboratoř by měla zavést opravná opatření v případě odchylek při měření kontrol.

#### Kalibrace

Doporučujeme Dialab multikalibrační sérum Diacal Auto.

### CHARAKTERISTIKY ČINNOSTI

Testy byly vykonány na přístroji BioMajesty® JCA-BM6010/C.

Příkladová data uvedená níže se mohou mírně lišit v případě odlišujících se podmínek měření.

#### Preciznost

V rámci analýzy (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	86.4	197	277
CV [%]	0.66	0.72	0.53
Mezi dny (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	29.7	139	305
CV [%]	3.10	1.49	1.70

#### Analytická citlivost

Limit detekce<sup>\*\*</sup>: 0.6 U/L.

<sup>\*\*</sup> nejnižší měřitelná koncentrace, kterou je možné rozlišit od nuly; průměr + 3 SD (n=20) u vzorku bez analytu.

#### Linearita a rozsah měření

Rozsah měření do 1400 U/L.

V případě manuálního provedení je test vhodný pro stanovení aktivit ALP, které odpovídají maximu  $\Delta A/\text{min}$  0.25. Po překročení této hraniční hodnoty je třeba vzorky zředit 1 + 9 roztokem NaCl (9 g/L) a výsledky vynásobit 10.

#### Analytická specifická

Interferující látka	Interference $\leq 10\%$ až po
Kyselina askorbová	30 mg/dL
Bilirubin (konjugovaný)	60 mg/dL
Bilirubin (nekonjugovaný)	36 mg/dL
Hemoglobin	150 mg/dL
Lipemie (Triglyceridy)	2000 mg/dL

Pro další informace o interferujících látkách viz Young DS<sup>6</sup>.

#### Klinická účinnost

Porovnání metod (n=100)	
Test x	Konkurenční alkalická fosfatáza (ALP)
Test y	DIALAB alkalická fosfatáza, mod. IFCC
Směrnice	1.03
Průsečík	3.96 U/L
Korelační koeficient	0.9998

#### NÁVAZNOST

Tato metoda je navázána k molárnímu extinkčnímu koeficientu.

#### OČEKÁVANÉ HODNOTY

Dospělí<sup>7</sup>:

	U/L	$\mu\text{kat/L}$
Ženy	35 – 104	0.58 – 1.74
Muži	40 – 129	0.67 – 2.15

Dospělí<sup>8</sup>:

	U/L	$\mu\text{kat/L}$
Ženy	35 – 105	0.58 – 1.75
Muži	40 – 130	0.67 – 2.17

Děti<sup>9</sup>:

	U/L		$\mu\text{kat/L}$	
	Ženy	Muži	Ženy	Muži
1 – 30 dnů	48-406	75-319	0.80-6.77	1.25-5.27
1 měsíc – 1 rok	124-341	82-383	2.07-5.68	1.37-6.38
1 – 3 roky	108-317	104-345	1.80-5.28	1.73-5.75
4 – 6 roků	96-297	93-309	1.60-4.95	1.55-5.15
7 – 9 roků	69-325	86-315	1.15-5.42	1.43-3.25
10 – 12 roků	51-332	42-362	0.85-5.53	0.70-6.03
13-15 roků	50-162	74-390	0.83-2.70	1.23-6.50
16-18 roků	47-119	52-171	0.78-1.98	0.87-2.85

\* Každá laboratoř by si měla zkontrolovat, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její populaci pacientů a v případě potřeby určit vlastní referenční rozsahy.

#### OMEZENÍ

Možný přenos alkalické fosfatázy do reagentů GOT (AST), hořčík (xylydylová modrá), anorganický fosfor (molybdenan) a oxid uhličitý (PEP-C). Aktuální přenos (carry-over) závisí na analyzátoru.

#### NAKLÁDÁNÍ S ODPADEM

Postupujte prosím podle místních právních požadavků.

#### LITERATURA

- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt. TH Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 36-46.
- Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1999. p. 617-721.
- IFCC primary reference procedure for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 2011; 49(9).
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms. Detection and prevention. ClinChemLabMed 2007; 45(9): 1240-1243.
- Guder WG, Zawta B et al. The quality of Diagnostic Samples. 1<sup>st</sup> ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p 14-5.
- Young DS. Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5<sup>th</sup> ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Abicht K et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37 °C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001; 39 (Suppl.): S 346 [abstract].
- Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- Soldin JS, Brugnara C., Wong CE. In: MJ Hicks, editor. Pediatric reference intervals. 6<sup>th</sup> ed. Washington: AACC Press, 2007. p. 11.

