

Alkaline phosphatase FS*

IFCC mod. 37°C

Katalogové číslo

Kat. č.	Velikost balení				
1 0441 99 10 021	R1	5 x 20 mL	+	R2	1 x 25 mL
1 0441 99 10 026	R1	5 x 80 mL	+	R2	1 x 100 mL
1 0441 99 10 023	R1	1 x 800 mL	+	R2	1 x 200 mL
1 0441 99 10 704	R1	8 x 50 mL	+	R2	8 x 12.5 mL
1 0441 99 10 917	R1	8 x 60 mL	+	R2	8 x 15 mL
1 0441 99 10 930	R1	4 x 20 mL	+	R2	2 x 10 mL
1 0441 99 90 314	R1	10 x 20 mL	+	R2	2 x 30 mL

Použití

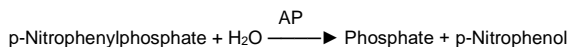
Diagnostická reagensie pro kvantitativní in vitro stanovení alkalické fosfatázy (AP) v séru nebo plazmě na fotometrických systémech.

Shrnutí

Alkalická fosfatáza (ALP) je hydrolytický enzym optimálně působící při alkalickém pH, vyskytuje se v krvi v mnoha různých formách, které se vytváří v kostech a játrech, ale i v jiných tkáních, jako např. v ledvinách, placentě, střevech, varlatech, brzlíku, plicích a tumorech. Fyziologická zvýšení ALP se vyskytují i u dětí při růstu kostí, v těhotenství, zatímco patologická zvýšení většinou souvisí s hepatobiliárním procesem a s kostními onemocněními. U hepatobiliárního onemocnění ukazuje na obstrukci žlučového, jako např. u cholestázy vyvolané žlučovými kameny, nádory nebo zánětem. Zvýšená činnost je rovněž pozorována při infekční žloutence. U kostních onemocnění je zvýšená činnost ALP vyvolána zvýšenou osteoblastickou činností, jako např. u Pagetovy nemoci, při měknutí kostí (rachitidě), kostních metastázích a hyperparatyreoidismu. [1,2]

Metoda

Kinetický fotometrické stanovení podle Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny (IFCC) [modif.] [3].



Reagensie

Komponenty a koncentrace

R1:	2-Amino-2-methyl-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
R2:	p-Nitrofenylfosfát		80 mmol/L

Skladování a stabilita

Reagensie jsou stabilní až do konce uvedeného měsíce expirace, pokud jsou skladovány při teplotě 2 - 8 °C a je zabráněno kontaminaci. Reagensie nezmrazujte a chraňte je před světlem.

Upozornění a bezpečnostní opatření

- Činidla obsahují azid sodný (0,95 g/l) jako konzervační látku. Nepolykejte! Zabraňte kontaktu s kůží a sliznicemi.
- Během reakce vzniká p-nitrofenol, který je jedovatý při vdechnutí, požití nebo vstřebání kůží. Pokud se reakční směs dostane do kontaktu s kůží nebo sliznicemi, vydatně je omyjte vodou!
- Ve velmi vzácných případech mohou vzorky pacientů s gamapatií poskytnout zkrácené výsledky [4].
- Seznamte se s bezpečnostními listy a dodržujte nezbytná bezpečnostní opatření při používání laboratorních činidel. Pro diagnostické účely je třeba výsledky vždy posuzovat s anamnézou pacienta, klinickými vyšetřeními a dalšími nálezy.
- Pouze pro profesionální použití.

Nakládání s odpady

Viz místní zákonné požadavky.

Příprava reagensií

Start substrátem

Reagensie jsou připraveny k použití.

Start vzorkem

Smíchejte 4 díly R1 + 1 díl R2

(např. 20 ml R1 + 5 ml R2) = monoreagent

Stabilita:	4 týdny	Při	2 – 8°C
	5 dnů	při	15 – 25°C

Mono reagent musí být chráněn před světlem.

Požadovaný materiál

Obecné laboratorní vybavení

Vzorek

Sérum nebo heparinová plazma

Nepoužívejte hemolytické vzorky.

Stabilita [5]:

7 dní	při	20 – 25°C
7 dny	při	4 – 8°C
2 měsíců	při	-20°C

Zmrazte pouze jednou. Kontaminované vzorky zlikvidujte

Pracovní postup

Aplikace pro automatizované systémy jsou k dispozici na vyžádání.

Vlnová délka	Hg 405 nm, 400 – 420 nm
Kyveta	1 cm
Teplota	37°C
Měření	Proti reagenčnímu blanku

Start substrátem

Vzorek/kalibrátor	Blank	Vzorek/kalibrátor
Dest. voda	-	20 µL
Reagensie 1	20 µL	-
Promíchejte, inkubujte přibližně 1 minutu a poté přidejte:	1000 µL	1000 µL
Reagensie 2	250 µL	250 µL
Promíchejte, po 1 minutě odečtěte absorbanci a spusťte stopky. Po 1, 2 a 3 minutách znovu odečtěte absorbanci..		

Start vzorkem

Vzorek/kalibrátor	Blank	Vzorek/kalibrátor
Dest. voda	-	20 µL
Mono reagent	20 µL	-
Promíchejte, po 1 minutě odečtěte absorbanci a spusťte stopky. Po 1, 2 a 3 minutách znovu odečtěte absorbanci.	1000 µL	1000 µL

Výpočet

S faktorem

Z naměřených hodnot absorbance vypočítejte $\Delta A/\text{min}$ a vynásobte příslušným faktorem z níže uvedené tabulky.:

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

Start substrátem	405 nm	3433
Start vzorkem	405 nm	2757

S kalibrátorem

$$\text{AP [U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min. Vzorku}}{\Delta A/\text{min. kalibrát.}} \times \text{konc. kalibrátoru [U/L]}$$

Konverzní faktor

$$\text{AP [U/L]} \times 0.0167 = \text{AP [\mu kat/L]}$$

Kalibrátory a kontroly

Pro kalibraci se doporučuje použít DiaSys TruCal U. Tato metoda je sledovatelná podle molárního extinkčního koeficientu. Pro interní kontrolu kvality použijte DiaSys TruLab N a P. Každá laboratoř by měla zavést nápravná opatření v případě, že by kontroly vyšly mimo povolené rozsahy.

	Kat. č.	balení		
TruCal U	5 9100 99 10 063	20	x	3 mL
	5 9100 99 10 064	6	x	3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20	x	5 mL
	5 9000 99 10 061	6	x	5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20	x	5 mL
	5 9050 99 10 061	6	x	5 mL

Charakteristiky metody:

Data byla vyhodnocena na analyzátoru BioMajesty® JCA-BM6010/C

Níže uvedené příkladné údaje se mohou v případě odlišných podmínek měření mírně lišit..

Rozsah měření až 1400 U/l. V případě manuálního postupu je test vhodný pro stanovení aktivity AP, která odpovídá maximálně 0,25 ΔA/min. Pokud jsou tyto hodnoty překročeny, je třeba vzorky zředit 1 + 9 roztokem NaCl (9 g/l) a výsledky vynásobit 10x.			
Detekční limit**	0.6 U/L		
Stabilita na palubě	6 dní		
Kalibrační stabilita	6 dní		
Interferující látka	Interference ≤ až 10%		
Kyselina askorbová	30 mg/dL		
Bilirubin (konjugovaný)	60 mg/dL		
Bilirubin (nekonjugovaný)	36 mg/dL		
Hemoglobin	150 mg/dL		
Lipémie (triglyceridy)	2000 mg/dL		
Další informace o interferujících látkách naleznete v Young DS [6].			
Přesnost			
V sérii (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	86.4	197	277
CV [%]	0.66	0.72	0.53
Den ze dne (n=20)	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3
Průměr [U/L]	29.7	139	305
CV [%]	3.10	1.49	1.70
Srovnání metody (n=100)			
Test x	Konkurenční Alkaline Phosphatase (AP)		
Test y	DiaSys Alkaline Phosphatase FS		
Sklon křivky	1.03		
Průsečík	3.96 U/L		
Koeficient korelace	0.9998		

** nejnižší naměřená koncentrace, která může být spolehlivě určena od nuly; průměr + 3 SD (n = 20) u vzorku bez analytu.

Referenční rozmezí

Dospělí [7]		
Ženy	35 – 104 [U/L]	0.58 – 1.74 μkat/L
Muži	40 – 129 [U/L]	0.67 – 2.15 μkat/L
Dospělí [8]		
Ženy	35 – 105 [U/L]	0.58 – 1.75 μkat/L
Muži	40 – 130 [U/L]	0.67 – 2.17 μkat/L

Děti [9]				
	Ženy [U/L]	Muži [U/L]	Ženy [μkat/L]	Muži [μkat/L]
1 – 30 dní	48 – 406	75 – 316	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 let	96 – 297	93 – 309	1.60 – 4.95	1.55 – 5.15
7 – 9 let	69 – 325	86 – 315	1.15 – 5.42	1.43 – 5.25
10 – 12 let	51 – 332	42 – 362	0.85 – 5.53	0.70 – 6.03
13 – 15 let	50 – 162	74 – 390	0.83 – 2.70	1.23 – 6.50
16 – 18 let	47 – 119	52 – 171	0.78 – 1.98	0.87 – 2.85

Každá laboratoř by měla ověřit, zda jsou referenční rozsahy přenositelné na její vlastní populaci pacientů, a v případě potřeby stanovit vlastní referenční rozsahy..

Literatura

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 36-46.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 617- 721.
3. IFCC primary reference procedures 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).
4. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 14-5.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. 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].
8. 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.
9. Soldin JS, Brugnara C., Wong CE. In: MJ Hicks, editor. Pediatric reference intervals. 6th ed. Washington: AACC Press, 2007. p. 11.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany
www.diasys-diagnostics.com

* Stabilní kapalina