

REF 10214-4 4 x 20 ml/4 ml

## ALKALISCHE PHOSPHATASE (ALP)

Die Patronen enthalten jeweils ein Nutzvolumen von 20 ml R1-Reagens und 4 ml R2-Reagens.

### VERWENDUNGSZWECK

Das EasyRA-ALP-Reagens ist für die quantitative Bestimmung von alkalischer Phosphatase im menschlichen Serum und Plasma (mit Lithiumheparin als Antikoagulans) anhand des klinischen MEDICA EasyRA-Analysators vorgesehen. Messungen alkalischer Phosphatase und ihrer Isoenzyme finden bei der Diagnose und Behandlung von Leber-, Knochen-, Nebenschilddrüsen- und intestinalen Erkrankungen statt.

Es ist nur für die *In-vitro*-Diagnose und den professionellen Einsatz bestimmt.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Alkalische Phosphatase bezieht sich auf eine Gruppe von Phosphatasen mit einem optimalen pH-Wert von etwa 10. Die alkalische Phosphatase ist im Gewebe des Körpers zu finden<sup>1</sup>. Der größte Teil der ALP in normalem Erwachsenenserum stammt aus der Leber und dem Gallengang<sup>2</sup>. Normale ALP-Konzentrationen sind altersabhängig und höher in Kindern und Heranwachsenden, die durch Phasen aktiven Knochenwachstums gehen. Erwachsene Männer weisen einen höheren Wert als erwachsene Frauen auf. Eine Ausnahme bilden schwangere Frauen, bei denen dieser Wert aufgrund der Abgabe von ALP durch die Plazenta erhöht ist.

Erhöhte ALP-Werte treten bei hepatobiliären Störungen wie Hepatitis, Zirrhose, Malignität und Knochenerkrankungen bei Erwachsenen auf<sup>3</sup>, die in Zusammenhang mit erhöhter osteoblastischer Aktivität stehen. Darunter fallen metastatische Karzinome, Rachitis, das Paget-Syndrom und die Osteomalazie<sup>3</sup>. Hohe ALP-Serumwerte sind auch bei der Hodgkin-Krankheit, dekompensierter Herzinsuffizienz, der Colitis ulcerosa, der regionalen Enteritis und intraabdominalen bakteriellen Infekten zu beobachten<sup>4</sup>.

### PRINZIP

Bei diesem Test wird die Aktivität der Serum-ALP mithilfe einer kinetischen Methode gemessen, die der von Bowers und McComb ähnlich ist<sup>5</sup>. ALP hydrolysiert das 4-Nitrophenylphosphat-Substrat, wobei 4-Nitrophenol und Phosphate entstehen.



4-Nitrophenol ist bei einem pH-Wert von 10,4 gelb. Das Absorbanzmaximum liegt bei 405 nm. Die Entstehungsgeschwindigkeit von 4-Nitrophenol ist direkt proportional zur Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Probe.

### REAGENZIEN

#### ALP-Pufferreagens (R1):

|                              |            |
|------------------------------|------------|
| 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol, |            |
| pH 10,4                      | 0,35 mol/l |
| Magnesiumchlorid             | 2,0 mmol/l |
| Zinksulfat                   | 1,0 mmol/l |
| HEDTA                        | 2,0 mmol/l |

#### ALP-Substratreagens (R2):

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| 4-Nitrophenylphosphat | 16 mmol/l |
|-----------------------|-----------|

### VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Die „Gute Laborpraxis“ sollte bei der Handhabung jeglicher Laborreagenzien befolgt werden (CLSI, GP17-A2).
2. Die Reagenzien enthalten weniger als 0,1 % Natriumazid, das mit Blei- und Kupferleitungen reagieren kann, wobei hochexplosive Metallazide entstehen können. Informieren Sie sich im Sicherheitsdatenblatt über Risiken, Gefahren und Sicherheit.
3. Wie bei Diagnosetests üblich sollte die Auswertung der Ergebnisse unter Beachtung aller Testergebnisse und des klinischen Status des Patienten erfolgen.
4. Verwenden Sie keine gewaschenen Küvetten.

### ANWEISUNGEN ZUR HANDHABUNG, LAGERUNG UND STABILITÄT DES REAGENS

Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Ungeöffnetes Reagens ist bis zum Verfallsdatum auf dem Etikett stabil, wenn es bei einer Temperatur von 2 – 8 °C gelagert wird.

Öffnen Sie das Reagens nur während der Durchführung eines Tests. Verschließen Sie das Reagens fest, wenn es nicht verwendet wird. Bei ordnungsgemäßer Verwendung ist das Reagens im gekühlten Reagensbereich des Medica EasyRA Analysators über den Zeitraum stabil, der auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert ist. Verfügt der Analysator nicht über eine Kühloption, sollten die Reagenzien nach dem Gebrauch wieder verschlossen und bei 2 – 8 °C gelagert werden. Verwenden Sie das Reagens nicht, wenn es trübe bzw. unklar ist und/oder es nicht in der Lage ist, bekannte Kontrollwerte für Serum wiederherzustellen.

## PROBENENTNAHME UND LAGERUNG/STABILITÄT

Mit Lithiumheparin beschichtete Röhrchen können für die Plasmasammlung verwendet werden. Zu verwenden ist klares, nicht hämolysiertes Serum oder Plasma. Serum-ALP ist bei 2–8 °C sieben Tage lang relativ stabil. Bei Lagerung erhöht sich die Enzymaktivität jedoch leicht. Eine Erhöhung der ALP-Aktivität kann auch bei einigen rekonstituierten Kontrollseren beobachtet werden, und das sowohl bei Raumtemperatur als auch gekühlt<sup>6</sup>.

## PROZEDUR

### BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Medica-ALP-Reagenspatrone, REF 10214

### Zusätzlich erforderliche Materialien

Medica-EasyQC®-Testsubstanz/Elektrolyte – Stufe A, REF 10793

Medica-EasyQC-Testsubstanz/Elektrolyte – Stufe B, REF 10794

Medica-Präzisionstest-Farbstoffpatrone, REF 10764

Medica-Reinigungspatrone – Testsubstanz + ISE, REF 10660 *oder*

Medica-Reinigungspatrone – Testsubstanz, REF 10661

### Gebrauchsanweisung

Das Reagens wird gebrauchsfertig geliefert. Entfernen Sie den Deckel und geben Sie das Reagens in die Reagensschale des EasyRA-Analysators im Reagensbereich. Die Einlegestabilität (max. 8 Tage) ist auf dem RFID-Chip der Reagenspatrone programmiert.

**Hinweis:** Überprüfen Sie das Innere der Patronenhäuse auf Schaum, nachdem Sie die Deckel entfernt und die Patronen in den EasyRA-Analysator eingesetzt haben. Entfernen Sie etwaigen Schaum mit einem Tupfer oder einer Einwegpipette, bevor Sie den Test durchführen. Verwenden Sie für R1 und R2 verschiedene Tupfer und Einwegpipetten.

### Kalibration

Nicht zutreffend

### Qualitätskontrolle

Es wird empfohlen, täglich bei jedem Patiententest und bei jedem Wechsel der Reagens-Charge zwei Stufen menschlicher, serumbasierter Kontrollsubstanzen (normal und abnorm) mit dem Test durchzuführen. Befinden sich die Werte bei dem Durchlauf der Kontrollsubstanzen außerhalb des gültigen Wertebereichs, kann dies auf Reagensverfall, eine Instrumentenfehlfunktion oder Verfahrensfehler zurückzuführen sein. Bei der Verwendung von Kontrollsubstanzen sollte das Labor Qualitätskontrollrichtlinien auf lokaler, Landes- und Bundesebene befolgen.

### Ergebnisse

Nach dem Abschluss des Tests berechnet der EasyRA-Analysator die ALP-Konzentration aus der Absorbanzänderung pro Minute, dem Probenvolumen, dem gesamten Reaktionsvolumen, der Weglänge (cm) von 0,6 und dem molaren Extinktionskoeffizienten von 18,75.

$$\text{ALP (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Gesamtvolumen } (\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Molarer Extinktionskoeffizient} \times \text{Weglänge (cm)} \times \text{Probenvolumen } (\mu\text{l}))}$$

### Erwartungswerte<sup>1</sup>

Der Bezugsbereich für ALP im Serum stellt sich wie folgt dar:

Erwachsene: 34–114 U/l (37 °C)

Bei diesen Werten handelt es sich um Richtlinien. Dabei ist es wichtig, dass jedes Labor eigene Erwartungswertebereiche festlegt, da zwischen Instrumenten, Labors und der lokalen Bevölkerung Unterschiede bestehen.

### Verfahrensbeschränkungen (z. B. wenn Probe über Testbereich)

Der ALP-Test ist bis 800 U/l linear. Wenn die Absorbanzänderung pro Minute ( $\Delta A/\text{min}$ ) größer als 0,1875 ist, werden die Ergebnisse vom Analysator mit „SD“ (Substraterschöpfung) gekennzeichnet. Absorbanzänderungen pro Minute, die über diesem Wert liegen, sind über dem Linearbereich dieses Tests. Sofern vorgesehen, wird die Probe mit einem kleineren Probenvolumen erneut getestet. Bei den Ergebnissen wird das kleinere Probenvolumen mit einberechnet. Dies erweitert den möglichen Bereich des ALP-Tests auf 1600 U/l.

## LEISTUNGSDATEN<sup>7</sup>

### Möglicher Bereich

Der mögliche Bereich liegt zwischen 10 und 800 U/l. Der erweiterte Bereich reicht von 10 bis 1600 U/l, wenn die Hälfte der Probe verwendet wird (1:1-Verdünnung).

### Ungenauigkeit/Korrelation (CLSI, EP9-A2)

In der folgenden Tabelle sind die Daten aus einem Vergleich zwischen dem Medica-Reagens für ALP (y) auf dem EasyRA-Analysator bei einer Primärwellenlänge von 405 nm zu finden und der Leistung desselben ALP-Reagens (x) auf dem EasyRA-Analysator bei einer Primärwellenlänge von 405 nm und einer Sekundärwellenlänge von 700 nm. Die unten aufgeführten Daten stellen Einzelbestimmungen vom EasyRA-Analysator bei einer Primärwellenlänge und einer Sekundärwellenlänge im Vergleich zum Durchschnitt zweier Wiederholwerte vom EasyRA-Analysator dar bei einer Primärwellenlänge.

|                         |        |                      |                               |
|-------------------------|--------|----------------------|-------------------------------|
| Probenanzahl            | 47     | Probenbereich        | 17–744 U/l                    |
| Steigung                | 0,9938 | y-Abschnitt          | 3,6906                        |
| Korrelationskoeffizient | 0,9998 | Regressionsgleichung | $y = 0,9938 \cdot X + 3,6906$ |

In der folgenden Tabelle sind die Daten aus einem Vergleich zwischen abgestimmten Proben von Serum (x) und lithiumheparinisiertem Plasma (y) unter Verwendung des Medica-Reagens für alkalische Phosphatase auf dem EasyRA-Analysator zu finden. Die nachstehenden Daten repräsentieren eine einzelne Plasmabestimmung im Vergleich zum Durchschnitt von zwei Wiederholungsserumwerten.

|                         |        |                      |                               |
|-------------------------|--------|----------------------|-------------------------------|
| Probenanzahl            | 74     | Probenbereich        | 13–764 U/l                    |
| Steigung                | 1,0284 | y-Abschnitt          | –6,4285                       |
| Korrelationskoeffizient | 0,9902 | Regressionsgleichung | $y = 1,0284 \cdot X - 6,4285$ |

\*Cobas Mira ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics, INC., Indianapolis, IN.

HINWEIS: Plasma-ALP-Ergebnisse können 5 bis 6 % niedriger sein als Serum-ALP-Ergebnisse<sup>8</sup>. Medica empfiehlt klinischen Labors, ihre eigenen Referenzbereiche für den ALP-Test auf Grundlage des Probenotyps festzulegen.

### Impräzision (CLSI, EP5-A2)

Zweifachmessungen für jede der drei Stufen von QK-Substanzen wurden 20 Tage lang zweimal pro Tag getestet. Sowohl die Präzision während des Durchlaufs als auch die Gesamtpräzision wurde aus diesen Daten gefolgert.

Impräzision bei Durchlauf:

| QK-Stufe<br>U/l | SA Durchlauf<br>U/l | VK Durchlauf<br>% |
|-----------------|---------------------|-------------------|
| 295             | 2,8                 | 1,0               |
| 184             | 2,1                 | 1,2               |
| 73              | 1,3                 | 1,7               |

Gesamtpräzision:

| QK-Stufe<br>U/l | SA Gesamtpräzision<br>U/l | VK Gesamtpräzision<br>% |
|-----------------|---------------------------|-------------------------|
| 295             | 6,2                       | 2,1                     |
| 184             | 4,4                       | 2,4                     |
| 73              | 2,1                       | 2,9                     |

### Linearität (CLSI, EP6-A)

Linear von 10 bis 800 U/l, basierend auf der linearen Regression  $y = 0,9845 \cdot x + 3,3253$

|                               |         |                |
|-------------------------------|---------|----------------|
| Erfassungsgrenze (LoB):       | 3,0 U/l | (CLSI, EP17-A) |
| Nachweisgrenze (LoD):         | 4,5 U/l | (CLSI, EP17-A) |
| Quantifizierungsgrenze (LoQ): | 9,1 U/l | (CLSI, EP17-A) |

### Störsubstanzen (CLSI EP7-A)

Weniger als 10 % Störung wurde als keine signifikante Störung eingestuft.

Es besteht eine signifikante Störung bei Hämolyse. Hämolysefreie Proben verwenden.

Bei Konzentrationen bis 20 mg/dl Bilirubin wurde keine signifikante Störung festgestellt.

Bei Konzentrationen bis 500 mg/dl Triglyzeride (unter Verwendung von Intralipid\*) wurde keine signifikante Störung festgestellt.

\*Intralipid ist eine eingetragene Marke von Pharmacia AB, Clayton, NC, USA.

Liste von Medikamenten und anderen Substanzen nach Young, die klinische Labortests<sup>9,10</sup> störend beeinflussen.

### LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Tietz N. W. Textbook of Clinical Chemistry, 2. Ausg. W. B. Saunders and Co., Philadelphia, P. A., S. 831-832 (1994).
- 2 Kaplan MM, Righetti A. *J Clin Inv.* 1955; 34:126.
- 3 Searcy, R. L. *Diagnostic Biochemistry*. New York, N. Y.: McGraw-Hill; 1969.
- 4 Kaplan M. M. *New Engl J Med.* 1972; 286:200.
- 5 Bowers, G. N., Jr., McComb, R. B.: A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alk. phos. *Clin Chem* 12:70–89, 1966.

- 6 Massion, C. G., Grankenfeld, J. K.: Alkaline phosphatase: Liability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material. *Clin Chem.* 18: 366, 1972.
- 7 Daten hinterlegt bei Medica.
- 8 Ciuti R., Rinaldi G. *Serum and Plasma Compared for Use in 19 Common Chemical Tests Performed in the Hitachi 737 analyzer*, Clin. Chem. 35:1562 (1989).
- 9 Young, D. S., Pestaner, L. C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. Clin Chem 21: 246D, 1975.
- 10 Young D. S. Young's Effects on-line. *Effects of Drugs, Physiology, Preanalytical variables and herbs on Clinical Laboratory Tests*. AACC [www.fxol.org](http://www.fxol.org)

### EasyRA-Testparameter (ALP)

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| Primärwellenlänge (nm)           | 405       |
| Sekundärwellenlänge (nm)         | 700       |
| Reaktionstyp                     | Enzym (0) |
| Reaktionsrichtung                | Erhöhung  |
| Blindreagens                     | nein      |
| Blindprobe                       | nein      |
| Max. Abs.-Änderung in 1. Messung | 0,075     |
| Reaktionszeit                    | 7,6 min   |

### Serum/Plasma

|                                |                                   |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| Probenvolumen (µl)             | 6,0                               |
| Volumen Verdünner 1 (µl)       | 20                                |
| Volumen Verdünner 2 (µl)       | 20                                |
| Volumen Reagens R1 (µl)        | 200                               |
| Volumen Reagens R2 (µl)        | 36                                |
| Dezimalstellen (Standard)      | 0                                 |
| Einheiten (Standardwerte)      | U/L                               |
| Verdünnungsfaktor              | 1:1 (zur Messbereichserweiterung) |
| Linearität                     | 10 bis 800 U/l                    |
| Molarer Extinktionskoeffizient | 18,75                             |
| Einlegestabilität Reagens      | 8 Tage                            |



Medica Corporation, 5 Oak Park Drive  
Bedford, MA 01730-1413 USA



Emergo Europe, Prinsessegracht 20  
2514 AP The Hague, The Netherlands