

REF 10214-4 4 x 20 ml/4 ml

## FOSFATAZA ALKALICZNA (ALP)

Każdy z pojemników zawiera 20 ml odczynnika R1 i 4 ml odczynnika R2.

### ZASTOSOWANIE

Odczynnik ALP EasyRA służy do ilościowego pomiaru fosfatazy alkalicznej w surowicy ludzkiej i osoczu (z heparyną litową jako antykoagulantem) z użyciem analizatora MEDICA EasyRA® Clinical Chemistry Analyzer. Pomiar fosfatazy alkalicznej lub jej izoenzymów jest wykorzystywany w diagnostyce i leczeniu chorób wątroby, kości, przytarczycy i jelit.

Wyłącznie do diagnostycznego stosowania *in vitro*. Do stosowania wyłącznie przez profesjonalny personel.

### OPIS I OBJAŚNIENIE

Fosfataza alkaliczna odnosi się do grupy fosfataz o optymalnym pH równym ok. 10. Fosfataza alkaliczna występuje w tkankach ciała<sup>1</sup>. Większość ALP w surowicy normalnych dorosłych pochodzi z wątroby lub przewodu żółciowego<sup>2</sup>. Normalne poziomy ALP zależą od wieku i są podwyższone u dzieci i młodzieży, w okresie aktywnego rozrostu kości. U dorosłych mężczyzn wartości te są wyższe, niż u kobiet, z wyjątkiem kobiet w ciąży, u których poziomy stężenie są wyższe na skutek łóżyskowego wydzielania ALP.

Podwyższone wartości ALP są obserwowane przy zaburzeniach układu wątrobowo-żółciowego<sup>3</sup>, takich jak żółtaczka, marskość wątroby, zmiany nowotworowe oraz przy chorobach kości u dorosłych powiązanych ze zwiększoną aktywnością osteoblastyczną, w tym rakiem przerzutowym, krzywicą, chorobą Pageta i osteomalacją<sup>3</sup>. Wysokie wartości ALP w surowicy są również obserwowane w chorobie Hodgkina, niewydolności zastoinowej serca, wrzodowym zapaleniu okrężnicy, miejscowym zapaleniu jelita i wewnątrzbrzusznych infekcji bakteryjnych<sup>4</sup>.

### ZASADY PROCEDURY

Test ten dokonuje pomiaru aktywności ALP w surowicy metodą kinetyczną podobną do metody Bowersa i McComba<sup>5</sup>. ALP wywołuje hydrolizę substratu fosforanu 4-nitrofenylu i tworzy 4-nitrofenol i fosforany.

Fosforan 4-nitrofenylu + H<sub>2</sub>O (ALP) → 4-nitrofenol + fosforan

4-nitrofenol ma żółte zabarwienie przy pH 10,4, ze szczytem absorpcji przy 405 nm. Prędkość powstawania 4-nitrofenolu jest wprost proporcjonalna do aktywności fosfatazy alkalicznej w próbce.

### ODCZYNNIKI

#### Odczynnik buforowy ALP (R1):

2-amino-2-metylo-1-propanol,	
pH 10,4	0,35 mol/l
Chlorek magnezu	2,0 mmol/l
Siarczan cynku	1,0 mmol/l
HEDTA	2,0 mmol/l

#### Odczynnik substratu ALP (R2):

Fosforan 4-nitrofenylu	16 mmol/l
------------------------	-----------

### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Podczas używania dowolnego odczynnika laboratoryjnego należy przestrzegać dobrych praktyk bezpieczeństwa. (CLSI, GP17-A2).
2. Odczynniki zawierają mniej niż 0,1% azydku sodu, który może wejść w reakcję z przewodami ołowianymi lub miedzianymi, tworząc azydki metali o silnych właściwościach wybuchowych. Informacje na temat ryzyka, zagrożeń i bezpieczeństwa można znaleźć w Karcie charakterystyki.
3. Tak jak w przypadku wszystkich procedur diagnostycznych, wyniki powinny zostać zinterpretowane z uwzględnieniem wyników wszelkich innych badań i stanu klinicznego pacjenta.
4. Nie używać mytych kuwet.

### INSTRUKCJE DOTYCZĄCE UŻYCIA, PRZECHOWYWANIA I STABILNOŚCI ODCZYNNIKA

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Nieotwarty odczynnik pozostaje stabilny, aż do upływu daty ważności (na etykiecie), jeśli jest przechowywany w temp. 2 - 8°C. Zdejmować korek z odczynnika wyłącznie podczas przeprowadzania analizy. Jeśli nie jest używany, odczynnik powinien być szczelnie zamknięty. Używany w ten sposób odczynnik pozostaje stabilny w komorze chłodniczej odczynników analizatora chemicznego Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) przez ilość dni zaprogramowaną w module RFID na pojemniku odczynnika. Jeśli analizator nie jest wyposażony w opcję chłodzenia, po użyciu odczynników należy je zamknąć i przechowywać w temperaturze 2 - 8°C. Nie używać odczynnika, jeśli jest mętny lub zanieczyszczony, lub jeśli wskazuje błędne wartości podczas porównania ze znanymi wartościami kontrolnymi.

## POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE/STABILNOŚĆ PRÓBEK

Do poboru osocza można użyć probówek powlekanych heparyną litową. Należy używać czystej, niehemolizowanej surowicy. ALP w surowicy zachowuje względną stabilność przez 7 dni w temperaturze 2–8°C. Podczas przechowywania jednak nieznacznie wzrasta aktywność enzymu. Wzrost aktywności ALP jest również obserwowany w niektórych surowicach kontrolnych, przechowywanych zarówno w temperaturze pokojowej, jak i w zamrożeniu<sup>6</sup>.

## PROCEDURA

### DOSTARCZONE MATERIAŁY

Pojemnik odczynnika Medica ALP (Medica ALP Reagent Wedge), NR REF. 10214

### Wymagane materiały dodatkowe

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom A, NR REF 10793

Medica EasyQC Chemistry/Electrolytes – Poziom B, NR REF 10794

Pojemnik z barwnikiem do testu precyzji Medica (Medica Precision Test Dye Wedge), NR REF. 10764

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE Wedge), NR REF. 10660 *lub*

Pojemnik ze środkiem czyszczącym Medica (Medica Cleaner Wedge – Chemistry), NR REF. 10661

### Sposób użycia

Odczynnik jest gotowy do użycia w dostarczonej postaci. Zdjąć korki i umieścić odczynnik na tacy odczynników analizatora EasyRA znajdującej się na obszarze odczynników. Stabilność podczas przechowywania (maksymalnie 8 dni) w systemie programowana jest w układzie RFID na pojemniku odczynnika.

**Uwaga:** Przed umieszczeniem pojemnika w analizatorze EasyRA sprawdzić, czy po zdjęciu korków wewnątrz szyjek pojemnika nie wytworzyła się piana. Jeśli pojawiła się piana, usunąć ją wacikiem lub jednorazową pipetką przed przeprowadzeniem badania. Używać oddzielnych czystych wacików lub pipetek do czyszczenia części odczynników R1 i R2.

### Kalibracja

Nie dotyczy.

### Kontrola jakości

Zaleca się przeprowadzanie kontroli jakości badania surowicy ludzkiej na dwóch poziomach (normalnym i abnormalnym) przynajmniej raz dziennie, jeśli wykonywane są badania pacjentów, oraz po każdorazowej zmianie partii odczynników. Problemy z uzyskaniem odpowiedniego zakresu wartości podczas oznaczania materiału kontrolnego mogą wskazywać na degradację odczynnika, usterkę instrumentu lub błędy proceduralne. Podczas korzystania z materiałów kontroli jakości w laboratorium należy stosować lokalne, stanowe i federalne wytyczne kontroli jakości.

### Wyniki

Po zakończeniu oznaczania analizator EasyRA oblicza stężenie ALP na podstawie zanotowanej zmiany absorbancji na minutę, objętości próbki, całkowitej objętości reakcji, długości ścieżki (cm) równej 0,6 i absorpcyjności molowej równej 18,75.

$$\text{ALP (U/l)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Całkowita objętość}(\mu\text{l}) \times 1000)}{(\text{Absorpcyjność molowa} \times \text{Długość ścieżki}(\text{cm}) \times \text{Objętość próbki}(\mu\text{l}))}$$

### Przewidywane wartości<sup>1</sup>

Zakres referencyjny dla ALP w surowicy jest następujący:

Dorośli: 34–114 U/l (37°C)

Wartości te stanowią wytyczne. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres wartości przewidywanych, gdyż istnieją różnice pomiędzy instrumentami, laboratoriami oraz mieszkańcami różnych regionów.

### Ograniczenia proceduralne (np. w przypadku wykroczenia próbki poza zakres oznaczania)

Test ALP ma liniowość do 800 U/l.

Jeśli zmiana absorpcji na minutę ( $\Delta A/\text{Min}$ ) przekracza 0,1875, analizator oznaczy test jako „SD” (wyczerpanie substratu). Zmiany absorbancji na minutę powyżej tej wartości wykraczają poza zakres liniowy testu. Próbka może zostać ponownie zbadana przy użyciu mniejszej objętości próbki, jeśli użytkownik podejmie taką decyzję. Wyniki ponownej analizy zostają obliczone z uwzględnieniem zmniejszonej objętości próbki. Spowoduje to rozszerzenie raportowanego zakresu oznaczania ALP do 1600 U/l.

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI<sup>7</sup>

### Zakres raportowany

Raportowany zakres wynosi od 10 do 800 U/l. Zakres rozszerzony wynosi od 10 do 1600 U/l przy użyciu połowy próbki (roztwór 1:1).

### Niedokładność/korelacja (CLSI, EP9-A2)

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania odczynnika ALP Medica (y) w analizatorze EasyRA wykorzystującym tylko główną długość fali wielkości 405 nm z tym samym odczynnikiem ALP (x) w analizatorze EasyRA wykorzystującym główną długość fali wielkości 405 nm i drugorzędą długość fali wielkości 700 nm. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń wykorzystujących główną długość fali wielkości i drugorzędą długość fali wielkości na analizatorze Medica EasyRA (Medica EasyRA Chemistry Analyzer) w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami uzyskanymi wykorzystując główną długość fali wielkości na analizatorze EasyRA.

Ilość próbek	47	Zakres próbek	17 – 744 U/l
Nachylenie	0,9938	Wychwytywanie y	3,6906
Współczynnik korelacji	0,9998	Równanie regresji:	$Y = 0,9938 * X + 3,6906$

Poniższa tabela zawiera wyniki porównania próbek dopasowanej surowicy (x) oraz próbek osocza z heparyną litową (y) przy użyciu odczynnika ALP Medica w analizatorze EasyRA. Przedstawione dane to wyniki dla pojedynczych oznaczeń osocza w porównaniu z przeciętnie dwiema powielanymi wartościami dla surowicy.

Ilość próbek	74	Zakres próbek	13 – 764 U/l
Nachylenie	1,0284	Wychwytywanie y	-6,4285
Współczynnik korelacji	0,9902	Równanie regresji:	$Y = 1,0284 * X - 6,4285$

\*Cobas Mira to zarejestrowana nazwa handlowa Roche Diagnostics, INC, Indianapolis, IN.

UWAGA: Wyniki testu ALP dla osocza mogą być od około 5% do 6% niższe niż wyniki ALP dla surowicy<sup>8</sup>. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

### Niedokładność (CLSI, EP5-A2)

Podwójne pomiary każdego z trzech poziomów materiałów do kontroli jakości były testowane dwa razy dziennie przez 20 dni. Dane te posłużyły do ustalenia zarówno dokładności wewnątrz przebiegu, jak i całkowitej.

Niedokładność wewnątrz przebiegu:

Poz. kontr. jakości U/l	SD wewn. przebiegu U/l	CV wewn. przebiegu %
295	2,8	1,0
184	2,1	1,2
73	1,3	1,7

Niedokładność całkowita:

Poz. kontr. jakości U/l	SD niedokł. całkowita U/l	CV niedokł. całkowita %
295	6,2	2,1
184	4,4	2,4
73	2,1	2,9

### Liniowość (CLSI, EP6-A)

Liniowe od 10 do 800 U/l, na podstawie regresji liniowej  $Y = 0,9845 * X + 3,3253$ .

Granica próby ślepej (LOB):	3,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Granica wykrywania (LOD):	4,5 U/L	(CLSI, EP17-A)
Granica oznaczania ilościowego (LoQ):	9,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

### Interferencja (CLSI EP7-A)

Interferencja poniżej 10% została sklasyfikowana jako „brak znaczącej interferencji”.

Zanotowano znaczącą interferencję dla hemoglobiny. Unikać używania próbek hemolizowanej surowicy.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla poziomów bilirubiny do 20 mg/dl.

Brak znaczącej interferencji zanotowano dla poziomów trójglicerydów do 500 mg/dl (z zastosowaniem Intralipid<sup>9</sup>).

<sup>9</sup>Intralipid jest zarejestrowanym znakiem towarowym Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young przedstawia listę leków i innych substancji będących przyczyną interferencji w klinicznych testach chemicznych<sup>9, 10</sup>.

## LITERATURA

- 1 Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, drugie wydanie, WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, str. 831-832 (1994).
- 2 Kaplan MM, Righetti A. *J Clin Inv.* 1955; 34:126.
- 3 Searcy, RL. *Diagnostic Biochemistry*. New York, NY: McGraw-Hill; 1969.
- 4 Kaplan MM. *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., Grankenfled, J.K.: *Alkaline phosphatase: Liability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material.* *Clin Chem.* 18: 366, 1972.
- 7 Dane własne 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, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; *Effects of drugs on clinical laboratory tests.* *Clin Chem* 21: 246D, 1975.
- 10 Young DS. 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)

## Parametry oznaczania EasyRA (ALP)

Podstawowa długość fali (nm)	405
Drugorzędna długość fali (nm)	700
Typ reakcji	Enzymatyczna (0)
Kierunek reakcji	Rosnący
Odczynnik ślepy	Nie
Próba ślepa	Nie
Maks. zmiana abs. w pierwszym okr.	0,075
Czas reakcji	7,6 min.

## Surowica/Osocze

Obj. próbki (μl)	6,0
Obj. rozcieńczalnika 1 (μl)	20
Obj. rozcieńczalnika 2 (μl)	20
Obj. odczynnika R1 (μl)	200
Obj. odczynnika R2 (μl)	36
Miejsca po przecinku (wartości domyślne)	0
Jednostki (wartości domyślne)	U/l
Współczynnik rozcieńczenia	1:1 (zwiększającego zakres pomiaru)
Liniowość	10–800 U/l
Absorpcyjność molowa	18,75
Stabilność odczynnika w systemie	8 dni