

RÉF 10214-4 4 x 20 mL / 4 mL

PHOSPHATASE ALCALINE (PAL)

Chaque cartouche contient un volume utilisable de 20 mL de réactif R1 et 4 mL de réactif R2.

UTILISATION PRÉVUE

Le réactif PAL EasyRA permet de déterminer la quantité de phosphatase alcaline dans le sérum humain (avec de l'héparine de lithium comme anticoagulant), grâce à « l'analyseur de chimie clinique Medica EasyRA® ». Les mesures de la phosphatase alcaline ou de ses isoenzymes permettent le diagnostic et le traitement des maladies du foie, des os, des glandes parathyroïdes et des intestins. Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Réservé à un usage professionnel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La phosphatase alcaline correspond à un groupe de phosphates dont le pH optimal est de 10 environ. La phosphatase alcaline est présente dans l'ensemble des tissus de l'organisme.¹ Chez l'adulte sain, la phosphatase alcaline présente dans le sérum provient essentiellement des systèmes hépatique et biliaire.² La norme concernant les taux de phosphatase alcaline dépend de l'âge, et est plus élevée chez l'enfant et l'adolescent chez qui la croissance osseuse est importante. Les valeurs de la phosphatase alcaline sont plus élevées chez la femme adulte que chez l'homme adulte, à l'exception de la femme enceinte chez qui les taux augmentent avec la sécrétion de PAL par le placenta.

Les valeurs de la phosphatase alcaline sont élevées en présence de troubles hépatobiliaires³ tels que l'hépatite, la cirrhose, le cancer, ou de maladies osseuses de l'adulte associées à une augmentation de l'activité ostéoblastique telles que le cancer métastatique, le rachitisme, la maladie de Paget et l'ostéomalacie.³ Des taux élevés de phosphatase alcaline sérique sont également observés dans la maladie de Hodgkin, l'insuffisance cardiaque congestive, la rectocolite ulcéro-hémorragique, la maladie de Crohn et les infections bactériennes intra-abdominales.⁴

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le test mesure l'activité de la phosphatase alcaline sérique par une méthode cinétique semblable à celle de Bowers et McComb.⁵ La phosphatase alcaline hydrolyse le substrat 4-nitrophényl phosphate pour former 4-nitrophénol et des phosphates.

PAL

4-Nitrophényl Phosphate + H₂O → 4-Nitrophénol + Phosphate

Le composant à 4-nitrophénol est de couleur jaune à un pH 10,4, avec une absorbance maximale de 405 nm. Le taux de formation du 4-nitrophénol est directement proportionnel à l'activité de la phosphatase alcaline dans l'échantillon.

RÉACTIFS

Réactif R1 (tampon réagissant à la PAL) :

2-amino-2-méthyl-1-propanol,	
pH 10,4	1,1 mol/L
Acétate de magnésium	2,0 mmol/L
Sulfate de zinc	0,5 mmol/L
HEDTA	2,5 mmol/L

Réactif R2 (substrat réagissant à la PAL) :

4-Nitrophényl Phosphate	80 mmol/L
-------------------------	-----------

PRÉCAUTIONS

1. Les bonnes pratiques de sécurité en laboratoire doivent être respectées lors de la manipulation des réactifs de laboratoire. (CLSI, GP17-A3).
2. Les réactifs contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. Néanmoins, cette substance peut réagir violemment au contact du plomb et du cuivre contenus dans le système de plomberie, et former des azides métalliques explosifs. Consulter la fiche de données de sécurité pour obtenir des informations sur les risques, les dangers et la sécurité.
3. Comme pour toute procédure de test diagnostique, l'interprétation des résultats doit tenir compte des résultats de tous les autres tests ainsi que de l'état clinique du patient.
4. Utiliser uniquement des cuvettes à usage unique.

INSTRUCTIONS CONCERNANT LA MANIPULATION, LE STOCKAGE ET LA STABILITÉ DU RÉACTIF

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Le réactif non ouvert est stable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette, à condition d'être stocké entre 2 et 8 °C. Refermer le réactif uniquement pendant la réalisation d'un test. **Conserver le réactif bien fermé lorsqu'il n'est pas utilisé.** Dans le respect de ces conditions d'utilisation, le réactif, conservé à bord de l'analyseur de chimie clinique EasyRA, est stable pendant le nombre de jours programmés dans la puce RFID sur la cartouche de réactif. Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble ou nuageux, ou s'il ne parvient pas à retrouver les valeurs de contrôle sérique connues. Protéger de la lumière.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS, STOCKAGE / STABILITÉ

Des tubes enduits d'héparine de lithium peuvent être utilisés pour le prélèvement du plasma. Utiliser du sérum ou du plasma clair non hémolysé. La PAL est relativement stable dans du sérum ou du plasma pendant 7 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.⁶ Cependant, l'activité enzymatique augmente légèrement pendant le stockage. Un incrément dans l'activité de la PAL est aussi observé sur certains sérums de contrôle reconstitués, qu'ils soient stockés à température ambiante ou dans le réfrigérateur.⁷

PROCÉDURE

MATERIEL FOURNI

Cartouche de réactif Medica PAL, Réf. 10214-4

Matériel auxiliaire nécessaire

Medica EasyQC[®], Niveau A – Chimie/Électrolytes, Réf. 10793

Medica EasyQC[®], Niveau B – Chimie/Électrolytes, Réf. 10794

Cartouche de colorant pour test de précision Medica, Réf. 10764

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie et électrodes sélectives, Réf. 10660 *ou*

Cartouche de nettoyant Medica – Chimie, Réf. 10661

Mode d'emploi

Le réactif est fourni prêt à l'emploi. Retirer le bouchon et placer le réactif dans le plateau de l'analyseur de chimie clinique EasyRA, situé dans le compartiment approprié de la cartouche. La stabilité du réactif à bord (8 jours maximum) est programmée dans la puce RFID sur la cartouche de réactif.

Remarque : Vérifier l'absence de mousse au niveau des collets de la cartouche après avoir retiré les bouchons et placé la cartouche sur l'analyseur de chimie clinique EasyRA. S'il y a de la mousse, procéder à son élimination à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette jetable avant d'effectuer le test. Utiliser des écouvillons ou pipettes jetables différents pour R1 et R2.

Étalonnage

Non applicable.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'inclure deux niveaux de contrôle (normal et anormal) à base de sérum humain quotidiennement lors des tests patient et à chaque changement de numéro de lot de réactifs. Si les résultats du matériel de contrôle du dosage ne correspondent pas à l'intervalle de valeurs attendues, cela peut indiquer la présence d'une dégradation du réactif, d'un mauvais fonctionnement de l'instrument ou d'erreurs survenues au cours de la procédure. Le laboratoire doit respecter les réglementations locales, d'état et fédérales en matière de contrôle de qualité, lorsqu'il en utilise le matériel.

Résultats

Une fois le dosage terminé, l'analyseur de chimie clinique EasyRA calcule la concentration en phosphatase alcaline à partir des modifications de l'absorbance par minute, du volume de l'échantillon, du volume réactionnel total, de la longueur de cheminement (cm) de 0,6 et de l'absorptivité molaire de 18,75.

$$\text{PAL (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Total Volume}(\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Molar absorptivity} \times \text{Pathlength}(\text{cm}) \times \text{Sample Volume}(\mu\text{L}))}$$

VALEURS ATTENDUES ¹

L'intervalle des valeurs de référence pour la phosphatase alcaline sérique est le suivant :

Adulte : de 34 à 114 U/L (37 °C)

Ces valeurs sont fournies à titre indicatif. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir son propre intervalle de valeurs attendues, compte tenu des différences qui existent entre les instruments, les laboratoires et les populations locales.

Limites de la procédure (si les valeurs de l'échantillon sont au-dessus de la limite supérieure de l'intervalle, par exemple)

Le dosage de la phosphatase alcaline est linéaire jusqu'à 800 U/L. Si les modifications de l'absorbance par minute ($\Delta A/\text{Min}$) sont supérieures à 0,1915, ce qui correspond à environ 800 U/L, l'analyseur le signale par les lettres « SD » (déplétion du substrat). Les modifications de l'absorbance par minute supérieures à cette valeur sont situées en dehors de l'intervalle de linéarité du test. Si l'icône de « répétition » est sélectionnée par l'opérateur, l'échantillon peut être à nouveau testé avec la moitié (1/2) de son volume. Le calcul des résultats issus de la répétition du test prend en compte la diminution de la taille de l'échantillon. Cela aura pour conséquence d'allonger l'intervalle rapporté du dosage de la phosphatase alcaline jusqu'à 1600 U/L.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES⁸

Intervalle rapporté

L'intervalle rapporté est compris entre 10 et 800 U/L. Il est compris entre 10 et 1600 U/L lorsque la moitié de l'échantillon est utilisée (dilution à 1:1).

Inexactitude/corrélation (CLSI, EP09-A2)

Le tableau suivant regroupe les données obtenues lors d'une comparaison de la performance entre le réactif ALP Medica (y) sur l'analyseur de chimie clinique EasyRA utilisant uniquement une longueur d'onde primaire de 405 nm et le même réactif ALP (x) sur l'analyseur de chimie clinique EasyRA utilisant une longueur d'onde principale de 405 nm et une longueur d'onde secondaire de 700 nm. Les données fournies ci-dessous correspondent à des dosages uniques obtenus utilisant une longueur d'onde primaire et une longueur d'onde secondaire sur l'analyseur de chimie clinique EasyRA par rapport à la moyenne des valeurs d'échantillons déterminés en double utilisant uniquement une longueur d'onde principale l'analyseur de chimie clinique EasyRA.

Nombre d'échantillons	47	Intervalle d'échantillons	17 à 744 U/L
Courbe	0,9938	Intersection avec l'axe des Y	3,6906
Coefficient de corrélation	0,9998	Équation de régression	$Y = 0,9938 * X + 3,6906$

Le tableau suivant regroupe les données obtenues en comparant des échantillons équivalents de sérum (x) et de plasma avec héparine de lithium (y) à l'aide du réactif PAL de Medica sur l'analyseur de chimie clinique EasyRA. Les données ci-dessous comparent un dosage unique du plasma par rapport à la moyenne des valeurs d'échantillons de sérum déterminées en double.

Nombre d'échantillons	74	Intervalle d'échantillons	13 à 764 U/L
Courbe	1,0284	Intersection avec l'axe des Y	-6,4285
Coefficient de corrélation	0,9902	Équation de régression	$Y = 1,0284 * X - 6,4285$

REMARQUE : la PAL plasmatique peut être inférieure de 5 à 6 % par rapport à la PAL sérique.⁹ Medica recommande aux laboratoires cliniques d'établir leurs propres plages de référence pour le test de la PAL, selon le type d'échantillon.

Imprécision (CLSI, EP05-A2)

Des mesures doubles de chacun des trois niveaux du matériel de contrôle de qualité ont été testées deux fois par jour pendant 20 jours. La précision intra-série et la précision totale ont été déterminées à partir de ces données.

Imprécision intra-série :

Taux du CQ U/L	DS intra-série U/L	CV intra-série %
295	2,8	1,0
184	2,1	1,2
73	1,3	1,7

Imprécision totale :

Taux du CQ U/L	DS imprécision totale U/L	CV imprécision totale %
295	6,2	2,1
184	4,4	2,4
73	2,1	2,9

Linéarité (CLSI, EP06)

Linéarité comprise entre 10 et 800 U/L, en fonction de la régression linéaire $Y = 0,9845 * X + 3,3253$.

Limite du blanc (LdB) :	3,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de détection (LD) :	4,5 U/L	(CLSI, EP17-A)
Limite de quantification (LQ) :	9,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

Substances interférentes (CLSI, EP07)

Une interférence inférieure à 10 % est désignée par « aucune interférence significative ».

Il existe une interférence significative avec l'hémolyse. Utiliser uniquement des échantillons non hémolysés.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de bilirubine allant jusqu'à 20 mg/dl.

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux de triglycérides allant jusqu'à 500 mg/dl (à l'aide du produit Intralipid*).

Aucune interférence significative n'a été observée pour un taux d'acide ascorbique allant jusqu'à 30 mg/dl.

**Intralipid est une marque déposée de Pharmacia AB à Clayton, Caroline du Nord.*

Young fournit une liste de médicaments et autres substances qui interfèrent avec les tests cliniques chimiques.^{10, 11}

RÉFÉRENCES

- 1 Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, p. 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 Gunder WG, Zawata B et al. *The Quality of Diagnostic Samples.* 3rd Edition: 2010. p. 32-3
- 7 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.
- 8 Documentation de Medica.
- 9 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).
- 10 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. *Clin Chem* 21: 246D, 1975.
- 11 Young DS. Young's Effects on-line. *Effects of Drugs, Physiology, Preanalytical variables and herbs on Clinical Laboratory Tests.* AACC www.fxol.org

PARAMÈTRES DU DOSAGE (PAL) EASYRA

Longueur d'onde principale (nm)	405
Longueur d'onde secondaire (nm)	700
Mode réactionnel	Enzymatique (0)
Sens réactionnel	Croissant
Blanc du réactif	Non
Blanc de l'échantillon	Non
Modif. max du premier intervalle de l'absorbance	0,075
Durée de la réaction	7,6 min
Stabilité du réactif à bord	8 jours

Sérum / Plasma

Volume de l'échantillon (µl)	6,0
Volume du diluant 1 (µl)	20
Volume du diluant 2 (µl)	20
Volume du réactif R1 (µl)	200
Volume du réactif R2 (µl)	36
Emplacements décimaux (par défaut)	0
Unités (valeur par défaut)	U/l
Facteur de dilution	1:1 (pour augmenter l'intervalle de dosage)
Linéarité	10 à 800 U/L

