

Utilisation

Pour la détermination quantitative de la phosphatase alcaline dans le sérum humain à l'aide des analyseurs Yumizen C230 et Yumizen C240. Pour le diagnostic *in vitro* uniquement. **Usage médical uniquement.**

Signification clinique

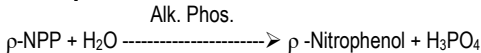
Les estimations de la phosphatase alcaline sérique sont intéressantes pour le diagnostic de deux groupes d'affections : les maladies hépatobiliaires et les maladies osseuses associées à une activité ostéoblastique accrue.¹

Résumé du test

La phosphatase alcaline dans le sérum est déterminée en mesurant le taux d'hydrolyse de divers esters de phosphate dans des conditions spécifiques. Le phosphate de p-nitrophényle est l'un de ces esters de phosphate et a été introduit comme substrat par Fujita en 1939².

Bessey, Lowry et Brock ont publié une procédure de point final en 1946³ tandis que Bowers et McComb ont rapporté une procédure cinétique en 1966.⁴ La procédure cinétique a subi plusieurs modifications et a été recommandée pour les analyses de routine.^{5,6} Ce réactif liquide est basé sur la méthode recommandée par l'AACC.⁷

Principe



Le p-Nitrophényl phosphate est hydrolysé en p-nitrophénol et en phosphate inorganique. La vitesse d'hydrolyse du p-NPP, mesurée à 405 nm, est directement proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline.

Composition des réactifs

Après avoir combiné R1 et R2 comme indiqué, le réactif contient : Tampon AMP (pH 10,45), p-NPP ≤16mM, ions magnésium ≥1,0mM, activateurs et conservateurs.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Stockage et stabilité des réactifs

Conservé le set de réactifs entre 2 et 8°C. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption s'ils sont conservés conformément aux instructions. Protéger de la lumière directe et éviter la contamination microbienne. **NOTE** : Le réactif R2 est sensible à la température et peut être affecté par une exposition prolongée à la température ambiante. Ramener le réactif à 2-8°C dès que possible après utilisation.

Précautions

- Ce kit de réactifs est destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Ne pas ingérer de matériel, la toxicité n'a pas été déterminée.
- Ne pas utiliser si l'absorbance initiale du réactif de travail est supérieure à 1,0 à 405 nm ou si le réactif ne répond pas aux paramètres de performance indiqués.
- Le réactif ne doit pas être utilisé s'il ne récupère pas les valeurs indiquées dans les sérums de contrôle ou s'il présente des signes de contamination microbienne.
- Tous les échantillons et les contrôles doivent être manipulés conformément aux bonnes pratiques de laboratoire en utilisant les précautions appropriées décrites dans le manuel CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2e édition, 1988, publication HHS no (CDC) 88-8395.

Recueil et stockage des échantillons

- Utiliser du sérum non hémolysé (le plasma ne doit pas être utilisé car les agents anticoagulants inhibent l'activité de la phosphatase alcaline).^{8,9}
- Les échantillons de sérum doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C et analysés dans les deux jours qui suivent.¹⁰
- Le prélèvement des échantillons doit être effectué conformément à la norme NCCLS M29-T2.¹¹ Aucune méthode ne peut garantir que les échantillons de sang humain ne transmettront pas d'infection. Par conséquent, tous les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Interférences

- Young et al⁸ fournissent une liste de médicaments et d'autres substances qui interfèrent avec la détermination de l'activité de l'ALP.
- La méthode n'est pas influencée (< 10 %) par des valeurs d'hémoglobine allant jusqu'à 500 mg/dl, les niveaux de bilirubine jusqu'à 20 mg/dl et la lipémie/triglycérides (Intralipide utilisé pour simuler) jusqu'à 1000mg/dl. Les études ont été réalisées sur l'analyseur Hitachi 717TM en suivant une modification des directives contenues dans le document EP7-P du NCCLS.¹²

Matériels fournis

Phosphatase alcaline R1 Réactif
Phosphatase alcaline R2 Réactif

Matériels requis mais non fournis

- Analyseur Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuel d'utilisation du Yumizen C230 / Yumizen C240
- Contrôle de chimie, numéro de catalogue C7592-100

Paramètres test

Test:	ALK. PHOS	Chemistry:	Alk. Phosphatase
Chemistry No.:	201	Print Name:	Alk. Phosphatase
Reaction Type:	Kinetic	Reaction Direction:	Positive
Pri. Wave:	405 nm	Sec. Wave:	670 nm
Decimal.:	0	Samp. Type:	Serum
Blank Time:		Reaction Time:	3 11
Unit:	U/L	Incubation Time:	3

	Sample Vol.	Aspirated	Diluent	Reagent Vol.	Diluent
Standard;	4.5	uL	uL	R1: 180	uL
Decreased;		uL	uL	R2: 45	uL
Increased;		uL	uL		uL

Linearity Range (Standard):	0-1000	Linearity Limit:	0.3	
Linearity Range (Decreased):		Substrate Depletion:	25000	
Linearity Range (Increased):		Mixed Blank Abs.:	- 40000 40000	
R1 Blank Abs.:	- 40000	40000	On-board Stability:	30 Day (s)
Blank Response	- 40000	40000	Reagent Alarm Limit:	5
Twin Chemistry:				

Prozone Check:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Use Qualitative Result:	Range:	Flag:
-------------------------	--------	-------

Slope Offset:	Slope	Offset	Unit
	1	0	U/L

Pretreatment:		
Pretreat Sample Vol.:	uL	Pretreat Reagent Vol.:
		uL

Ref. Range:			
Sample Type:	Gender:	Age Range:	Ref. Range: Critical Range: Unit:

Paramètres d'étalonnage

Chem:	Alk. Phos.
Calibration Setting	
Math Model:	K Factor
Factor:	2276.000
Replicates:	2
Acceptance Limits	
Cal Time:	24 hr.
Slope Diff:	SD:
Sensitivity:	Repeatability:
	* User Defined
Deter Coeff:	
Auto Calib.	
	<input type="checkbox"/> Cal Time

Calibrator	Conc.	Pos	Lot No.
Water	0.0	W	

Pointe Phosphatase Alcaline Kit réactifs

Limites

- Cette méthode permet de mesurer la phosphatase alcaline totale indépendamment du tissu ou de l'organe d'origine. D'autres tests peuvent être nécessaires pour faciliter le diagnostic différentiel.
- Les échantillons dont les valeurs dépassent 1 000 UI/L doivent être dilués avec un volume égal de solution saline et dosés à nouveau en multipliant les résultats par deux.

Calibration

La procédure est normalisée au moyen de l'absorptivité millimolaire du p-nitrophénol (18,75 à 405nm) dans les conditions spécifiées. Les résultats sont basés sur la variation de l'absorbance par unité de temps ; tous les paramètres doivent être connus et contrôlés.

Calculs (Exemple)

Une unité internationale (UI/L) est définie comme la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une micromole de substrat par minute dans des conditions spécifiées.

$$(UI/L) = \frac{\Delta Abs./Min. \times 1000 \times 1.025}{18.75 \times 1 \times .025} = \Delta Abs./min. \times 2187$$

Où $\Delta Abs./Min.$ = Variation moyenne de l'absorbance par minute
 1000 = Conversion des UI/ml en UI/L
 1.025 = Volume total de réaction (ml)
 18.75 = Absorbance millimolaire du p-nitrophénol
 .025 = Volume de l'échantillon (ml)
 1 = Trajet lumineux en cm

Exemple : si votre $\Delta Abs./min.$ = 0,06

Alors $0,06 \times 2187 = 131$ UI/L

NOTE : si les paramètres du test sont modifiés, le facteur doit être recalculé en utilisant la formule ci-dessus.

Unités SI : pour convertir en unités SI (nkat/L), multiplier UI/L par 16,67.

Contrôle qualité

La validité de la réaction doit être contrôlée à l'aide de sérums de contrôle présentant des activités ALP normales et anormales connues et doit être effectuée à chaque poste de travail au cours duquel des dosages ALP sont réalisés. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse sa propre fréquence de détermination des contrôles. Les exigences en matière de contrôle de la qualité doivent être respectées conformément aux réglementations nationales ou aux exigences en matière d'accréditation.

Valeurs attendues

Adultes 35-123 UI/L à 37°C. Cette plage de référence est basée sur une étude réalisée par le fabricant à partir d'échantillons prélevés sur 783 adultes en bonne santé apparente. Les enfants ont une valeur normale plus élevée. Il est fortement conseillé à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de valeurs normales.

Caractéristiques spécifiques des performances

Données générées par les analyseurs Yumizen de la série 200.

Gamme d'essais : 0-1000 IU/L

Précision : des études comparant la méthode du réactif de la phosphatase alcaline liquide utilisée sur les analyseurs de la série Yumizen 200 et un analyseur similaire ont donné les résultats suivants :

Méthode	Phosphatase Alcaline
N	59
Moy. Phosphatase Alcaline UI/L	198
Plage de valeurs UI/L	0-927
Ecart-type UI/L	251
Calcul de régression	Y=1.077x - 8.9
Coefficient de corrélation	0.993

Précision :

La précision intra-journalière du réactif de phosphatase alcaline liquide a été déterminée en suivant une modification du document EP5-T217 du NCCLS

en utilisant les analyseurs de la série Yumizen 200. Les études de précision intra-journalière ont donné les résultats suivants :

Echantillon	BAS	HAUT
N	20	20
Moy. Phosphatase Alcaline UI/L	61	171
Ecart-type UI/L	2.5	2.6
Coefficient de variation (%)	4.1	1.5

La précision au jour le jour a également été déterminée en suivant une modification du document EP5-T2 du NCCLS.¹⁷ Les études de précision au jour le jour réalisées sur les analyseurs de la série Yumizen 200 ont donné les résultats suivants :

Echantillon	BAS	HAUT
N	80	80
Moy. Phosphatase Alcaline UI/L	81	204
Ecart-type UI/L	2.6	4.1
Coefficient de variation (%)	3.3	2.0

Sensibilité : 2SD Limite de détection (95% Conf) = 0.828 UI/L

Références

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 603 (1982).
- Fujita, H., J. Biochem. (Japan) 30:69 (1969).
- Bessey, O.A., Lowry, O.H., Brock, M.J., J. Biol. Chem. 164:321 (1964).
- Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B., Clin. Chem. 12:70 (1966).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Wilkinson, J.H., et al, Clin. Chem. 15:487 (1969).
- Tietz, N.W., et al, Clin. Chem. 29:751 (1983).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p. 927 (1974).
- Rej, R., Clin. Chem. 23:1903 (1977).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- NCCLS document "Interference testing in Clinical Chemistry", 2nd Ed. (1992).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Symbol Key

Use by (YYYY-MM-DD)	LOT Lot and batch code
REF Catalog number	Manufacturer
IVD <i>In vitro</i> diagnostic medical device	Temperature limitation
Consult instructions for use	Rx Only: Prescription Use Only
CE mark	EC REP Authorized representative in the European Community

REF 12-A7516-100

Manufactured by
 HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand
 5449 Research Drive Canton, MI 48188



Manufactured by HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand
 5449 Research Drive, Canton, MI 48188

European Authorized Representative:

Obelis s.a.
 Boulevard Général Wahis 53
 1030 Brussels, BELGIUM

Tel: (32)2.732.59.54 Fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net



Certifié pour l'utilisation des réactifs

Les réactifs Pointe sont certifiés comme étant fabriqués selon les paramètres spécifiés. Tout produit réactif Pointe non conforme aux spécifications jusqu'à sa date de péremption sera remplacé immédiatement et sans frais.

Rev. 11/23 P803-A7516-MIN-FR