

Przeznaczenie

Do ilościowego oznaczania fosfatazy alkalicznej w surowicy ludzkiej za pomocą analizatorów Yumizen C230 i Yumizen C240. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
Rx only.

Znaczenie kliniczne

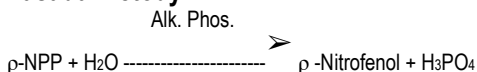
Oznaczenia fosfatazy alkalicznej w surowicy są przydatne w diagnostyce dwóch grup schorzeń; choroby wątroby i dróg żółciowych oraz choroby kości związane ze zwiększoną aktywnością osteoblastów.¹

Streszczenie

Fosfatazę alkaliczną w surowicy oznacza się, mierząc szybkość hydrolizy różnych estrów fosforanowych w określonych warunkach. Fosforan p-nitrofenylu jest jednym z takich estrów fosforanowych i został wprowadzony jako substrat przez firmę Fujita w 1939 r.²

Bessey, Lowry i Brock opublikowali procedurę punktu końcowego w 1946³, podczas gdy Bowers i McComb opisali procedurę kinetyczną w 1966.⁴ Procedura kinetyczna została poddana kilku modyfikacjom i została zalecona do rutynowej analizy.^{5,6} Ten płynny odczynnik jest oparty na zalecanej metodzie AACC.⁷

Zasada metody



p-Fosforan nitrofenylu jest hydrolizowany do p-nitrofenolu i fosforanu nieorganicznego. Szybkość hydrolizy p-NPP, mierzona przy 405 nm, jest wprost proporcjonalna do aktywności fosfatazy alkalicznej.

Skład odczynnika

Po połączeniu R1 i R2 zgodnie z zaleceniami odczynnik zawiera: bufor AMP (pH 10,45), p-NPP ≤16mM, jony magnezu ≥1,0mM, aktywatory i konserwanty.

Przygotowanie odczynnika

Odczynniki są gotowe do użycia.

Przechowywanie i stabilność odczynnika

Przechowywać zestaw odczynników w temperaturze 2-8°C. Odczynniki zachowują stabilność do daty ważności, jeśli są przechowywane zgodnie z zaleceniami. Chronić przed bezpośrednim światłem i unikać zanieczyszczenia mikrobiologicznego. **UWAGA:** Odczynnik R2 jest wrażliwy na temperaturę i może na niego wpływać przedłużona ekspozycja na temperaturę pokojową. Jak najszybciej po użyciu przywrócić odczynnik do temperatury 2-8°C.

Środki ostrożności

- Ten zestaw odczynników jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
- Nie polykać żadnego materiału, toksyczność nie została określona.
- Nie stosować, jeśli początkowa absorbancja odczynnika roboczego jest większa niż 1,0 przy 405 nm lub odczynnik nie spełnia podanych parametrów działania.
- Odczynnika nie należy używać, jeśli nie odzyskuje podanych wartości w surowicach kontrolnych lub wykazuje oznaki zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Ze wszystkimi próbkami i kontrolami należy obchodzić się zgodnie z dobrymi praktykami laboratoryjnymi, stosując odpowiednie środki ostrożności opisane w podręczniku CDC/NIH, „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories”, wyd. 2, 1988, publikacja HHS nr (CDC) 88-8395.

Pobieranie i przechowywanie próbek

- Użyj niezhemolizowanej surowicy (nie należy używać osocza, ponieważ leki przeciwzakrzepowe hamują aktywność fosfatazy alkalicznej).^{8,9}
- Próbki surowicy należy przechowywać w temperaturze 2-8°C i analizować w ciągu dwóch dni.¹⁰
- Pobieranie próbek powinno odbywać się zgodnie z NCCLS M29-T2.¹¹ Żadna metoda nie daje całkowitej pewności, że próbki krwi ludzkiej nie przeniosą zakażenia. Dlatego wszystkie próbki krwi należy traktować jako potencjalnie zakażone.

Interferencje

- Young i wsp.⁸ podają listę leków i innych substancji, które zakłócają oznaczanie aktywności ALP.

- Na metodę nie mają wpływu (< 10%) wartości hemoglobiny do 500mg/dl, poziomy bilirubiny do 20 mg/dl i lipemia/trójglicerydy (do symulacji użyto preparatu Intralipid) do 1000mg/dl. Badania przeprowadzono na analizatorze Hitachi 717™ po modyfikacji wytycznych zawartych w dokumencie NCCLS EP7-P.¹²

Materiały zapewnione

Odczynnik fosfatazy alkalicznej R1
Odczynnik fosfatazy alkalicznej R2

Materiały wymagane ale niedostarczane

- Analizator Yumizen C230 / Yumizen C240
- Instrukcja obsługi Yumizen C230 / Yumizen C240
- Kontrola chemiczna, numer katalogowy C7592-100

Parametry testu

Test:	ALK. PHOS	Nazwa chem.: Fosfataza alkaliczna
Numer:	201	Wydruk: Fosfataza alkaliczna
Typ reakcji:	Kinetyczna	Kierunek reakcji: Rosnąca
Dł. Fali I:	405 nm	Dł. Fali II: 670 nm
Miejsca dziesiętne:	0	Typ próbki: Surowica
Próba ślepa:		Cykl reakcji: 3 11
Jednostka:	U/L	Cykl inkubacji: 3

	Obj. próbki	Aspiracja	Rozcieńczalnik	Obj. odczynnika	Rozcieńczalnik
Prawidłowa;	4.5	uL	uL	uL R1: 180	uL uL
Zmniejszona;		uL	uL	uL R2: 45	uL uL
Zwiększona;		uL	uL	uL	

Zakres liniowości (Prawidłowy);	0-1000	Limit liniowości:	0.3
Zakres liniowości (Zmniejszony);		Zużycie substratu:	25000
Zakres liniowości (Zwiększony);		Mieszana abs. próby ślepej:	- 40000 40000
Abs. R1/próba ślepa.:	- 40000 40000	Stabilność na pokładzie:	30 Dni
Próba ślepa:	- 40000 40000	Limit alarmu odczynnika:	5
Chemia bliźniacza:			
Efekt Prozone:			
Q1:	Q2:	Q3:	
Q4:	PC:	ABS:	

Użyj wyniku jakościowego:

Zakres:	Flagi:		
Przesunięcie i nachylenie:			
Przesunięcie	Nachylenie	Jednostka	
1	0	U/L	
Przygotowanie:			
Objętość próbki:	uL	Objętość odczynnika.:	uL
Zakres referencyjny:			
Typ próbki: Pleć:	Zakres dla wieku:	Zakres ref.:	Wartości krytyczne: Jednostka:

Parametry kalibracji

Chem:	Alk. Phos.
Ustawienia kalibracji	
Model mat:	K Factor
Factor:	2276.000
Powtórzenia:	2
Akceptowalne limity	
Ważność kalibracji:	24 godz.
Różnica nachylenia:	SD:
Czułość:	Powtarzalność:
* Zdefiniowane przez użytkownika	
Współczynnik determinacji:	
Automatyczna kalibracja:	
<input type="checkbox"/> Po upływie ważności	

Pointe Alkaline Phosphatase Reagent Set

Ograniczenia

1. Ta metodologia mierzy całkowitą fosfatę alkaliczną niezależnie od pochodzenia tkanki lub narządu. Konieczne mogą być dalsze testy, aby pomóc w diagnostyce różnicowej.
2. Próbkę o wartościach przekraczających 1000 IU/L należy rozcieńczyć równą objętością soli fizjologicznej i ponownie oznaczyć mnożąc wyniki przez dwa.

Kalibracja

Procedura jest standaryzowana za pomocą milimolowej absorpcji p-nitrofenolu (18,75 przy 405 nm) w określonych warunkach. Wyniki oparte są na zmianie absorbancji na jednostkę czasu; wszystkie parametry muszą być znane i kontrolowane.

Obliczenia (przykład)

Jedna jednostka międzynarodowa (IU/l) jest zdefiniowana jako ilość enzymu, która katalizuje przemianę jednego mikromola substratu na minutę w określonych warunkach.

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

Gdzie Abs./Min. = Średnia zmiana absorbancji na minutę

1000 = Konwersja IU/ml na IU/L

1.025 = Całkowita objętość reakcji (ml)

18.75 = Milimolowa absorpcja p-nitrofenolu

.025 = Objętość próbki (ml)

1 = Droga światła w cm

Przykład: Jeśli Twoje Abs./min. = 0.06

Następnie $0.06 \times 2187 = 131 \text{ IU/L}$

UWAGA: W przypadku zmiany parametrów testu należy ponownie obliczyć współczynnik, korzystając z powyższego wzoru.

Jednostki SI: Aby przeliczyć na jednostki SI (nkat/L), pomnóż IU/L przez 16,67.

Kontrola jakości

Ważność reakcji powinna być monitorowana przy użyciu surowic kontrolnych ze znaną prawidłową i nieprawidłową aktywnością ALP i powinna być oznaczana na każdej zmianie roboczej, podczas której wykonywane są testy ALP. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło własną częstotliwość oznaczania kontroli. Kontrolę jakości należy przeprowadzać zgodnie z lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi przepisami lub wymaganiami dotyczącymi akredytacji.

Wartości oczekiwane

Dorośli 35-123 j.m./l w temperaturze 37°C. Ten zakres referencyjny opiera się na badaniu przeprowadzonym przez producenta na próbkach pochodzących od 783 pozornie zdrowych osób dorosłych. Dzieci mają wyższą wartość normalną. Zdecydowanie zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło swój własny zakres normy.

Charakterystyka Dane generowane na analizatorach serii Yumizen 200.

Zakres testu: 0-1000 IU/L

Dokładność: Badania porównujące metodę płynnego odczynnika fosfaty alkalicznej stosowaną w analizatorach serii Yumizen 200 i podobnym analizatorze dały następujące wyniki:

Metoda	Fosfatasa alkaliczna
N	59
Średnia Fosfatasa alkaliczna IU/L	198
Zakres IU/L	0-927
Odczylenie standardowe IU/L	251
Analiza regresji	$Y=1.077x - 8.9$
Współczynnik korelacji	0.993

Precyzja:

Precyzja w ciągu dnia dla płynnego odczynnika fosfaty alkalicznej została określona po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T217 przy użyciu

analizatorów serii Yumizen 200. Badania precyzji w ciągu dnia dały następujące wyniki:

Próbka	NISKI	WYSOKI
N	20	20
Średnia Fosfatasa alkaliczna IU/L	61	171
Odczylenie standardowe IU/L	2.5	2.6
Współczynnik zmienności (%)	4.1	1.5

Precyzja z dnia na dzień została również określona po modyfikacji dokumentu NCCLS EP5-T2.17. Badania precyzji z dnia na dzień przeprowadzone na analizatorach serii Yumizen 200 dały następujące wyniki:




Próbka	NISKI	WYSOKI
N	80	80
Średnia Fosfatasa alkaliczna IU/L	81	204
Odczylenie standardowe IU/L	2.6	4.1
Współczynnik zmienności (%)	3.3	2.0

Zużość: granica wykrywalności (95% konf.) = 0.828 IU/L

Piśmiennictwo

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

Symbol

 Data przydatności (RRRR-MM-DD)	 Nr LOT i kod partii
 Numer katalogowy	 Producent
 Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Zakres temperatur
 Zapoznaj się z instrukcją użytkownika	Rx Only: Wyłącznie do profesjonalnego użytku
 Znak CE	 Autoryzowany przedstawiciel na Europę

 12-A7516-100

Wyprodukowano przez
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



Certyfikacja

Odczynniki Pointe są certyfikowane zgodnie z określonymi parametrami.

Każdy odczynnik Pointe, który nie spełnia specyfikacji w podanym terminie ważności, zostanie natychmiast i bezpłatnie wymieniony.

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