

Alkalisches Phosphatase (ALP) -Reagenz

AMP Puffer (IFCC)

KURZBESCHREIBUNG DES PRODUKTS

Stabilität	: 30 Tage bei 2-8°C
Linearer Bereich	: bis zu 1000 U/L (16,7 µkat/L)
Probe Typ	: Serum und Plasma
Methode	: Kinetische
Reagenz-Vorbereitung	: Hinzufügen der angegebenen Menge Puffers.

SYMBOLE PRODUKTBEZEICHNUNG

EC REP	Autorisierter Vertreter		Temperaturbeschränkung
IVD	Für in vitro Diagnostik		Verfallsdatum
LOT	Batch Code / Losnummer		VORSICHT! Siehe Benutzungsanweisungen
REF	Katalognummer		Hergestellt von
	Siehe Benutzungsanweisungen	REAG A	Reagenz A
REAG A	Reagenz A	REAG B	Reagenz B

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagenz dient der quantitativen in-vitro-Bestimmung von ALP (Orthophosphorisch - Monoester Phosphohydrolase, Alkalisches Optimum, EC 3.1.3.1), in menschlichem Serum oder Plasma.

KLINISCHE BEDEUTUNG¹

Menschliche ALP besteht aus einer Gruppe von Enzymen (mindestens 5), die Phosphatase bei einem alkalischen pH-Wert (6-8) hydrolysieren. ALP kann in praktisch allen Körpergeweben gefunden werden, tritt jedoch in hohen Konzentrationen in den Osteoblasten von Knochen, Leber, Plazenta, Nieren, Darmwand und laktierenden Brustdrüsen auf. Bei Erwachsenen stammt die im Serum zirkulierende auftretende ALP normalerweise hauptsächlich von der Leber. Bei Kindern oder bei Jugendlichen, die pubertäre Wachstumsschübe durchmachen, leisten die Knochen einen zusätzlichen Beitrag, wodurch der höhere Bezugsbereich für diese Gruppen zu erklären ist. Schwangerschaft erhöht die Normalwerte von ALP ebenfalls.

Erhöhte ALP-Werte werden oft bei Knochenerkrankungen oder Leberkrankheiten, bei denen der Gallenkanal einbezogen ist, beobachtet. Falls die Quelle der Isoenzyme nicht deutlich ist, kann die Schätzung von GGT dabei helfen, zwischen den beiden zu unterscheiden. Erhöhte GGT-Werte bei gleichzeitig erhöhter ALP würde darauf hindeuten, dass die Leber die Hauptquelle ist. Erhöhte ALP (gewöhnlich normale GGT-Werte) werden bei Osteomalazie und Rachitis, primärem Hyperparathyroidismus mit Knochenbefall, Morbus Paget, sekundärem Knochenkarzinom und einigen Fällen von osteogenem Sarkom beobachtet. Erhöhte ALP-Werte (gewöhnlich zusammen mit einem erhöhten GGT-Wert) treten bei Cholestase, Hepatitis, Zirrhose, verbreiteten Läsionen und bösartigen Tumoren mit Knochen- oder Leberbefall bzw. direkter Produktion auf. Niedrige ALP-Werte können bei Erkrankungen beobachtet werden, die Kleinwuchs oder Hypophosphatasie verursachen.

METHODE

Diese Alkalische Phosphatase (ALP) - Methode basiert auf den Empfehlungen der Internationalen Gesellschaft für Klinische Chemie (IFCC)². Diese Methode verwendet als Substrat 4-Nitrophenylphosphat. Unter den optimierten Bedingungen katalysiert das in der Probe vorhandene ALP die folgende Transphosphorylierungs-Reaktion.



Beim pH-Wert der Reaktion zeigt das 4-Nitrophenoxid eine intensive gelbe Färbung. Das Reagenz enthält auch ein metallisches Ionen-Puffersystem, um sicherzustellen, dass Zink und Magnesium in den optimalen Konzentrationen vorhanden sind. Der metallische Ionen-Puffer kann auch andere möglicherweise vorhandene, potentiell störende Ionen binden (chelieren). Die Reaktion wird beobachtet, indem die Steigerungsrate der Absorption bei 405 nm gemessen wird, die proportional zur ALP-Aktivität im Serum ist.

Abkürzungen

4-NPP = 4-Nitrophenylphosphat
4-NPO = 4-Nitrophenoxid
AMP = 2-Amino-2-methyl-1-propanol
ALP = Alkalische Phosphatase

REAGENZZUSAMMENSETZUNG

Aktive Bestandteile

Reagenz A:	Konzentration
4-NPP	16,3 mmol/L
Reagenz B:	
AMP	420 mmol/L
Mg Acetat	2,4 mmol/L
ZnSO ₄	1,2 mmol/L
HEDTA	2,4 mmol/L
pH 10,7 ± 0,1 bei 20°C	

WARNUNG: Nicht Einnehmen! Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Im Falle des Verschüttens die betroffenen Flächen gründlich mit Wasser waschen. Für zusätzliche Informationen konsultieren Sie bitte das Material- und Sicherheitsdatenblatt mit dem Titel "ALP-AMP (IFCC)-Reagenz". Die Verpackung dieses Produkts enthält trockenen Naturkautschuk. Vorsicht beim Umgang mit Falzungen und zerbrochenen Glassphiolen, da scharfe Kanten zu Verletzungen führen können.

REAGENZVORBEREITUNG

Reagenz A mit der auf dem Phiolenetikett angegebenen Menge des Puffers, Reagenz B, rekonstituieren. Bis zur Auflösung behutsam schütteln.

STABILITÄT UND LAGERUNG

Vor der Benutzung:

Bei gekühlter Lagerung bei einer Temperatur von 2-8 °C ist das Reagenz bis zu dem auf der Flasche und Testschachtel angegebenen Verfallsdatum stabil.

Rekonstituiertes Reagenz:

Das Reagenz ist bei verschlossener Lagerung in 2-8°C für wenigstens 30 Tage stabil.

Indikationen einer Verschlechterung des Reagenz:

- Trübung
- Absorptionsvermögen >0,8 bei 405nm (1cm);und/oder
- Beobachtete Kontrollwerte sind außerhalb des erlaubten Bereichs.

PROBENSAMMLUNG UND HANDHABUNG²

Serum: nicht-hemolysiertes Serum verwenden.

Plasma: Heparin verwenden. Kein EDTA, Oxalat oder Fluorid verwenden.

Aufbewahrung: Die ALP-Aktivität in gelagertem Serum erhöht sich im Lauf der Zeit. Die Erhöhung der Aktivität des bei Raumtemperatur gelagerten Serums ist bis zu 4 Stunden lang minimal. Die Erhöhung der Aktivität von bei 2-8°C oder gefroren gelagerten Seren nimmt bei Erwärmung deutlich zu. Diese Zuwachsrate ist sowohl temperatur- als auch zeitabhängig.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT GELIEFERTE AUSTRÜSTUNG

- erforderlich, Pipetten zur genauen Beigabe gemessener Mengen.
- Klinisches Chemie-Messgerät, das eine konstante Temperatur (37°C) sowie ein Mess-Absorptionsvermögen von 405 nm beibehalten kann.
- Gerätespezifische Materialien, z.B. Probebehälter, usw.
- Bereits gemessenes, normales und abnormales Kontrollmaterial

TESTVERFAHREN (ASSAY VERFAHREN/PROZEDUR)

Die folgenden Systemparameter werden empfohlen. Individuelle Instrumentanwendungen sind auf Anfrage von der Technischen Unterstützungsgruppe erhältlich.

SYSTEMPARAMETER

Temperatur	30/37°C
Wellenlänge	405 nm (405 - 420 nm)
Sekundäre Wellenlänge	660 nm (600 - 660nm)
Testtyp	Geschwindigkeit/Kinetisch
Richtung	Erhöhung
Probe : Reagenz-Verhältnis	1 : 50
z.B.: Probe Volumen	4 µL
Reagenz Volumen	200 µL
Verzögerungszeit	60 Sekunden
Ablesezeit	120 Sekunden
Reagenz-Blindgrenzen	niedrig 0,0 AU
(405nm, 1cm Lichtweg)	hoch 0,8 AU
Linearität	bis zu 1000 U/L
(siehe Abschnitt Linearität)	(16,7 µkat/L)
Analytische Sensitivität	0,37 ΔmA/min pro U/L
(405 nm, 1 cm Lichtweg)	(22 ΔmA/min pro µkat/L)

BERECHNUNGEN

Die Ergebnisse werden, gewöhnlich vom Instrument automatisch, wie folgt berechnet:

Aktivität in U/L = $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Faktor}$

$$\text{Faktor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{18,8 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Wobei:

TV = Gesamtreaktionsmenge in mL
SV = Probenmenge in mL
18.8 = millimolarer Absorptionskoeffizient von 4-nitrophenol bei 405nm
P = Weglänge Küvette in cm.

Beispiel:

$\Delta\text{Abs}/\text{min} = 0,075$
Faktor = 2713
ALP = $0,075 \times 2713 = 203 \text{ U/L}$

ANMERKUNGEN

- Die Reagenz- und Probenmengen können proportional verändert werden, um unterschiedliche Spektrophotometer-Anforderungen zu berücksichtigen.
- Falls die Veränderung der Absorption größer als 0,37 AU/min ist, mit Salzlösung verdünnen und erneut testen. Das Endergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.
- Gültige Ergebnisse hängen von genau kalibrierten Instrumenten, Zeiteinteilung und Temperaturkontrolle ab.
- Einheitsumrechnung: $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$.

KALIBRIERUNG

Nicht erforderlich. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird zu U/L Aktivität durch einen Berechnungsfaktor umgerechnet. Nehmen Sie auf den Abschnitt Berechnungen dieser Packungsbeilage Bezug.

QUALITÄTSKONTROLLE

Um adäquate Qualitätskontrolle sicherzustellen, sollten normale und abnormale Kontrollen mit getesteten Werten als unbekannte Proben getestet werden, und zwar:-

- Mindestens einmal täglich oder wie durch das Labor festgelegt.
- Wenn eine neue Flasche mit Reagenz verwendet wird.
- Nach Durchführen einer Wartung oder dem Austausch einer wichtigen Komponente.

Kontrollergebnisse, die über der Ober- bzw. unter der Untergrenze des festgelegten Bezugsbereichs liegen, zeigen an, dass der Test außer Kontrolle geraten sein mag.

In solchen Situation werden folgende Korrekturmaßnahmen empfohlen:-

- Wiederholen Sie dieselben Kontrollen.
- Falls die Ergebnisse der wiederholten Kontrollen wieder außerhalb der Grenzwerte liegen, bereiten Sie frisches Kontrollserum zu und wiederholen Sie den Test.
- Falls die Ergebnisse des frischen Kontrollmaterials immer noch außerhalb der Grenzwerte liegen, wiederholen Sie den Test mit frischem Reagenz.
- Falls die Ergebnisse immer noch außer Kontrolle sind, kontaktieren Sie den Technischen Kundendienst oder Ihren lokalen Händler.

BESCHRÄNKUNGEN

- Es wurden Studien zur Bestimmung der Interferenz von Hämoglobin, Bilirubin und Lipämie auf einem automatischen klinischen Chemieanalysegerät durchgeführt. Es entstanden die folgenden Ergebnisse:

Hämoglobin: Keine Interferenz von Hämoglobin bis zu 500 mg/dL.

Bilirubin: Keine Interferenz von Bilirubin bis zu 340 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL).

Lipämie: Keine Interferenz von Lipämie, als Triglyzeride gemessen, bis zu 4 mmol/L (360 mg/dL).

- Young DS³ hat eine umfassende Liste von Medikamenten und Substanzen veröffentlicht, die diesen Test beeinträchtigen könnten.

ERWARTETE WERTE

Bei 37°C	20-50 Y	Männer:	53 - 128 U/L (0,90 - 2,13 $\mu\text{kat/L}$)
		Frauen:	42 - 98 U/L (0,70 - 1,63 $\mu\text{kat/L}$)
	≥60 Y	Männer:	56 - 119 U/L (0,93 - 1,98 $\mu\text{kat/L}$)
		Frauen:	53 - 141 U/L (0,90 - 2,35 $\mu\text{kat/L}$)
Bei 30°C	20-50 Y	Männer:	30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 $\mu\text{kat/L}$)
		Frauen:	20 - 80 U/L (0,33 - 1,33 $\mu\text{kat/L}$)
	≥60 Y	Männer:	30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 $\mu\text{kat/L}$)
		Frauen:	40 - 110 U/L (0,67 - 1,85 $\mu\text{kat/L}$)

Die angegebenen Werte sind für den erwarteten Bereich bei dieser Methode repräsentativ und sollten nur als Leitfaden dienen. Es wird empfohlen, dass jedes Labor diesen Bereich überprüft bzw. für die von ihm betreute Bevölkerungsgruppe einen Bezugsbereich festlegt.⁴

LEISTUNGSDATEN

Die folgenden Daten wurden unter Verwendung des ALP-AMP (IFCC) Reagenz auf einem sich in gutem Zustand befindlichen automatischen klinischen Chemie-Analysegerät erhalten. Der Benutzer muss die Produktleistung für sein spezifischen Gerät festlegen.

UNGENAUIGKEIT

Die Ungenauigkeit wurde mit zwei Levels kommerzieller Kontrollseren und gemäß des NCCLS EP5-T Verfahren festgelegt.⁵

Innerhalb des Testlaufs:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	80	80
Durchschnitt (U/L / $\mu\text{kat/L}$)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD (U/L / $\mu\text{kat/L}$)	1,9 / 0,032	5,0 / 0,083
CV (%)	2,0	1,2

Total:	Stufe I	Stufe II
Anzahl der Datenpunkte	80	80
Durchschnitt (U/L / $\mu\text{kat/L}$)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD (U/L / $\mu\text{kat/L}$)	3,6 / 0,060	11,9 / 0,198
CV (%)	3,9	2,8

METHODENVERGLEICH

Zur Bezugnahme wurden mit einem ähnlichen im Handel erhältlichen ALP-Reagenz Vergleichsstudien durchgeführt. Serum- und Plasma- (Heparin) Proben wurden parallel getestet und die Ergebnisse mit der Methode der kleinsten Quadrate verglichen. Es entstand die folgende Statistik.

Anzahl der Probenpaare	60
Bereich der Probenergebnisse	13 -1241 U/L (0,217- 20,7 $\mu\text{kat/L}$)
Durchschnitt der Bezugsmethoden-Ergebnisse	110 U/L (1,83 $\mu\text{kat/L}$)
Durchschnitt der ALP-AMP-Ergebnisse	125 U/L (2,08 $\mu\text{kat/L}$)
Steigung	1,16
Schnittpunkt	-2,24 U/L (-0,037 $\mu\text{kat/L}$)
Korrelationskoeffizient	1,000

LINEARITÄT


Bei empfohlener Durchführung ist der Test bis zu 1000 U/L (16,7 $\mu\text{kat/L}$).

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Bei empfohlener Durchführung ist die Sensitivität dieses Tests 0,37 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ pro U/L (22 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ pro $\mu\text{kat/L}$).

LITERATURHINWEISE

- Zilva JF, Pannall PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd London 1979: Chap 15 343.
- IFCC method for the measurement of ALP J Clin Chem Clin Biochem 1983: 21:731-48.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990: 3: 19-25.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- Kennedy JW et al: User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices 1989: NCCLS Vol 4, No 8: 185-95.

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK
840332 (R1)



REF

Nachbestellinformation

Katalog Nr.	REAG A	REAG B
TR11110/1140-200	20 x 10 mL	1 x 200 mL
TR11115	20 x 20 mL	2 x 200 mL
TR11103/1140-500	10 x 50 mL	1 x 500 mL
TR11104	10 x 200 mL	4 x 500 mL

© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.