

Réactif de la Phosphatase Alcaline (ALP)

Tampon AMP (IFCC)

CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT

Stabilité	: 30 jours entre 2 et 8 °C
Limites de linéarité	: Jusqu'à 1000 U/L (16,7 µkat/L)
Nature de l'échantillon	: Sérum et Plasma
Méthode	: Cinétique
Préparation du réactif	: Ajouter le volume spécifié de tampon.

SYMBOLES DE L'ÉTIQUETAGE DU PRODUIT

EC REP	Représentant Autorisé		Limites de température
IVD	Utilisation en diagnostique in vitro		Utiliser jusque
LOT	Numéro de lot		ATTENTION: Consulter les instructions d'utilisation
REF	Référence catalogue		Fabriqué par
	Consulter les instructions d'utilisation	REAG A	Réactif A
REAG B	Réactif B		

UTILISATION PRÉVUE

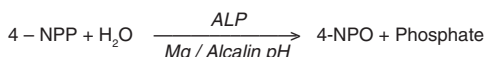
Ce réactif est prévu pour la détermination quantitative in vitro de l'ALP (phosphohydrolase monoester orthophosphorique, optimum alcalin, EC 3.1.3.1), dans le sérum ou le plasma humain.

INTERET CLINIQUE¹

L'ALP humaine est composée d'un groupe d'enzymes (au moins 5) qui hydrolysent les phosphates à un pH alcalin (6-8). L'ALP se trouve dans pratiquement tous les tissus du corps mais à des concentrations élevées dans les ostéoblastes du squelette, du foie, du placenta, du rein, de la paroi intestinale et des glandes mammaires lors de l'allaitement. Chez les adultes, l'ALP circulant normalement dans le sérum provient en grande partie du foie. Chez les enfants ou les adolescents subissant des poussées de croissance pubertaires, le squelette ajoute une contribution et ceci explique l'intervalle de référence plus élevé pour ces groupes. La grossesse élève également les valeurs normales de l'ALP. Les niveaux d'ALP supérieurs s'observent souvent lors de maladies osseuses ou d'affections hépatique impliquant le tractus biliaire. Si la source de l'isoenzyme n'est pas évidente, l'évaluation de la GGT peut aider à la choisir. Une GGT importante en présence d'une élévation de l'ALP suggère que le foie est la source principale. Une augmentation de l'ALP (GGT habituellement normale) se rencontre dans l'ostéomalacie et le rachitisme, l'hyperparathyroïdisme primaire impliquant le squelette, la maladie de Paget, le carcinome secondaire du squelette et quelques cas d'ostéosarcome ostéogénique. Une augmentation de l'ALP (GGT habituellement élevée) se rencontre dans la cholestase, l'hépatite, la cirrhose, les lésions encombrantes et la malignité impliquant le squelette ou le foie ou la production directe. On peut observer des niveaux d'ALP faibles dans les conditions qui stoppent la croissance osseuse dans l'hypophosphatasie.

PRINCIPE DE LA METHODE

Cette méthode pour la phosphatase alcaline (ALP) est basée sur les recommandations de la Fédération internationale de biochimie (IFCC)². Cette méthode utilise du 4-nitrophenylphosphate comme substrat. En conditions optimisées, l'ALP présente dans l'échantillon catalyse la réaction de transphosphorylation suivante.



Au pH de la réaction, le 4-nitrophenoxide a une couleur jaune intense. Le réactif contient également un système de tampon d'ion métallique qui garantit la conservation des concentrations optimales en zinc et en magnésium. Le tampon d'ions métalliques peut également chélater d'autres ions potentiellement inhibiteurs pouvant être présents. La réaction se suit en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm qui est proportionnelle à l'activité de l'ALP dans le sérum.

Abréviations

4-NPP = 4-Nitrophénylphosphate
 4-NPO = 4-Nitrophénoxide
 AMP = 2-Amino-2-méthyl-1-propanol
 ALP = Phosphatase alcaline

COMPOSITION DU RÉACTIF

Ingrédients actifs

Réactif A:	Concentration
4-NPP	16,3 mmol/L
Réactif B:	
AMP	420 mmol/L
Mg Acetate	2,4 mmol/L
ZnSO ₄	1,2 mmol/L
HEDTA	2,4 mmol/L
pH 10,7 ± 0,1 à 20°C	

PRECAUTIONS: Ne pas ingérer. Eviter tout contact avec les yeux. En cas de débordements ou de coulures rincer les surfaces affectées à l'eau. La fiche de sécurité sur le réactif de la ALP-AMP (IFCC) contient des informations plus détaillées. L'emballage de ce produit contient du caoutchouc naturel sec Manipuler avec précaution les sertissages et les fioles en verre cassées, car les bords acérés peuvent blesser l'utilisateur.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Reconstituez le réactif A avec le volume de tampon, le réactif B, indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Avant utilisation:

Lorsqu'il est conservé réfrigéré à 2-8°C, le réactif est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon ou du coffret.

Réactif reconstitué:

Stocké entre 2 et 8°C, le réactif est stable pendant au moins 30 jours.

Indications de la détérioration du réactif:

- Turbidité,
- Absorbance >0,8 à 405nm (1cm); et/ou
- Impossibilité d'obtenir les valeurs de contrôle dans leur fourchette de tolérance.

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS²

Sérum: Utilisation de sérum non-hémolysé.

Plasma: Utiliser de l'héparine. Ne pas utiliser d'EDTA, d'oxalate ou de fluorure.

Conservation: L'activité de l'ALP dans le sérum stocké augmente avec le temps. L'augmentation de l'activité du sérum stocké à la température ambiante est minimale dans un délai de 4 heures. L'augmentation de l'activité lors du réchauffement du sérum stocké à 2-8°C ou des sérums congelés est significative. Le taux de cette augmentation dépend de la température et de la durée.

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Le cas échéant, des pipettes pour répartir précisément les volumes mesurés.
- Un analyseur de biochimie capable de maintenir une température constante (37°C) et de mesurer une absorbance à 405 nm.
- Consommables nécessaires au fonctionnement de l'analyseur, par ex.: cupules échantillon.
- Serum de contrôle normal et pathologique.

PROCÉDURE DE DOSAGE

Les paramètres de système suivants sont recommandés. Des applications d'instruments individuelles sont disponibles sur demande auprès du groupe de support technique.

PARAMÈTRES DU SYSTÈME

Température	30/37°C
Longueur d'onde principale	405 nm (405-420 nm)
Longueur d'onde secondaire	660 nm (600-660 nm)
Type de dosage	Taux/Cinétique
Direction	Augmentation
Echantillon: taux de réactif	1 : 50
p. ex.: Volume de l'échantillon	4 µL
Réactif Vol.	200 µL
Temps de latence	60 secondes
Temps de lecture	120 secondes
Limites du blanc du réactif	Basse 0,0 AU
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	Haute 0,8 AU
Linéarité	Jusqu'à 1000 U/L
(voir la section linéarité)	(16,7 µkat/L)
Sensibilité Analytique	0,37 ΔmA/min par U/L
(405 nm, chemin optique de 1 cm)	(22 ΔmA/min par µkat/L)

CALCULS

Les résultats sont calculés, habituellement automatiquement par l'instrument, comme suit:

Activité en U/L = Δ Abs/min x Facteur

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

Où:

- TV = Volume total de la réaction en mL
- SV = Volume de l'échantillon en mL
- 18,8 = coefficient d'absorption millimolaire du 4-nitrophénol à 405 nm
- P = Chemin optique de la cuvette en centimètres.

Exemple:

$$\begin{aligned} \Delta\text{Abs/min} &= 0,075 \\ \text{Facteur} &= 2713 \\ \text{ALP} &= 0,075 \times 2713 = 203 \text{ U/L} \end{aligned}$$

REMARQUES

- Les volumes de réactif et d'échantillon peut être modifié en proportion pour s'adapter aux prescriptions de divers spectrophotomètres.
- Si la variation de l'absorbance est supérieure à 0,37 AU/min, diluer avec une solution saline et doser à nouveau. Multiplier le résultat final par le facteur de dilution.
- La validité des résultats dépend de la précision de l'étalonnage des appareils, de la synchronisation et du contrôle de la température.
- Conversions d'unité : U/L x 16,67 x 10⁻³ = μ kat/L.

CALIBRAGE

Non requis. Le taux de réaction est converti en U/L d'activité par un facteur de calcul. Voir la section Calcul du présent insert d'emballage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Pour garantir un contrôle adéquat de la qualité, des contrôles normaux et anormaux à valeurs dosées doivent être testés comme des échantillons inconnus:

- Au moins une fois par jour ou conformément aux instructions du laboratoire.
- Si un nouveau flacon de réactif est utilisé.
- Après une maintenance préventive ou le remplacement d'un composant critique.

Des résultats de contrôle au dessus de la limite supérieure ou sous la limite inférieure des plages établies indiquent un dosage peut-être hors contrôle.

Les actions correctrices suivantes sont recommandées dans ces situations:

- Répéter les mêmes contrôles.
- Si les résultats du contrôle répété sont hors limites, préparer un sérum de contrôle neuf et répétez le test.
- Si les résultats restent hors des limites sur un matériau de contrôle frais, répéter le test avec un réactif neuf.
- Si les résultats sont toujours hors limites, contacter les services techniques ou votre distributeur local.

LIMITES DE LA PROCEDURE

- Les études pour déterminer le niveau d'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie ont été effectuées avec un analyseur de biochimie automatisé. Les résultats suivants ont été obtenus:

Hémoglobine: Aucune interférence avec l'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dL.

Bilirubine: aucune interférence avec la bilirubine jusqu'à 340 μ mol/L (20 mg/dL).

Lipémie: aucune interférence avec la lipémie, mesurée comme triglycérides, jusqu'à 4 mmol/L (360 mg/dL).

- Young DS[®] a publié une liste complète de médicaments et de substances pouvant interférer avec ce dosage.

VALEURS ATTENDUES

À 37°C	20-50 Y	Hommes: 53 - 128 U/L (0,90 - 2,13 μ kat/L)
		Femmes: 42 - 98 U/L (0,70 - 1,63 μ kat/L)
	≥60 Y	Hommes: 56 - 119 U/L (0,93 - 1,98 μ kat/L)
		Femmes: 53 - 141 U/L (0,90 - 2,35 μ kat/L)
À 30°C	20-50Y	Hommes: 30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 μ kat/L)
		Femmes: 20 - 80 U/L (0,33 - 1,33 μ kat/L)
	≥60 Y	Hommes: 30 - 90 U/L (0,50 - 1,50 μ kat/L)
		Femmes: 40 - 110 U/L (0,67 - 1,85 μ kat/L)

Les valeurs indiquées ne représentent que la plage prévue pour cette méthode et ne sont que des indications. Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier sa plage ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il sert.⁴

MESURES

Les données suivantes ont été obtenues avec le réactif de ALP-AMP (IFCC) sur un analyseur de biochimie automatisé bien entretenu. Les utilisateurs devront établir les caractéristiques de la performance du produit sur leur propre analyseur.

IMPRÉCISION

L'imprécision a été évaluée avec deux niveaux de contrôle du commerce en respectant la procédure NCCLS EP5-T.⁵

Dans la session:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (U/L / μ kat/L)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD	1,9 / 0,032	5,0 / 0,083
CV (%)	2,0	1,2

Total:	NIVEAU I	NIVEAU II
Nombre de points de données	80	80
Moyenne (U/L / μ kat/L)	94 / 1,57	425 / 7,08
SD	3,6 / 0,060	11,9 / 0,198
CV (%)	3,9	2,8

COMPARAISON DE METHODES

Des études comparatives ont été menées avec un réactif de l'ALP du commerce similaire comme référence. Des échantillons de sérum et de plasma (héparine) ont été dosés en parallèle et les résultats ont été comparés par régression du moindre carré. Les statistiques suivantes ont été obtenues.

Nombre de paires d'échantillons	60
Plage des résultats des échantillons	13 - 1241 U/L (0,217 - 20,7 μ kat/L)
Moyenne des résultats de référence de la méthode	110 U/L (1,83 μ kat/L)
Moyenne des résultats de ALP-AMP	125 U/L (2,08 μ kat/L)
Pente	1,16
Interception	-2,24 U/L (-0,037 μ kat/L)
Coefficient de corrélation :	1,000

LINÉARITÉ


Effectué selon les recommandations, le dosage est linéaire jusqu'à 1000 U/L (16,7 μ kat/L).

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Utilisé selon les prescriptions, la sensibilité de ce dosage est de 0,37 Δ mA/min par U/L (22 Δ mA/min par μ kat/L).

RÉFÉRENCES

- Zilva JF, Pannall PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in *Référence 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)



© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Information Commandes

No de Catalogue	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