



## PHOSPHATASE ALCALINE

(Méthode AMP optimisée IFCC)

Code	Nom du produit	Taille de l'emballage
G0003	Phosphatase Alcaline	5 X 25 ml
G0034	Phosphatase Alcaline	5 X 50 ml

### Utilisation prévue

Réactif de diagnostic pour la détermination quantitative *in vitro* de l'ALP dans le sérum ou le plasma humain.

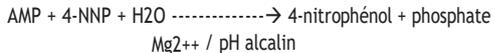
### Signification clinique

L'ALP humaine est constituée d'un groupe d'enzymes qui hydrolysent les phosphates à un pH alcalin. L'ALP est présente dans pratiquement tous les tissus de l'organisme, mais en concentrations élevées dans les ostéoblastes des os, le foie, le placenta, les reins, la paroi intestinale et les glandes mammaires en lactation. Chez les adultes, l'ALP qui circule normalement dans le sérum provient en grande partie du foie. Chez les enfants ou les adolescents en phase de croissance pubertaire, une contribution supplémentaire est apportée par les os, ce qui explique l'intervalle de référence plus élevé pour ces groupes. La grossesse augmente également les valeurs normales de l'ALP. Des niveaux élevés d'ALP sont souvent observés en cas de maladie osseuse ou de maladie hépatique impliquant les voies biliaires. Si la source de l'isoenzyme n'est pas apparente, l'estimation de la GGT peut aider à différencier les deux. Un taux élevé de GGT en présence d'un taux élevé d'ALP suggère que le foie est la source principale. Une augmentation de l'ALP (habituellement une GGT normale) est observée dans l'ostéomalacie et le rachitisme, l'hyperparathyroïdie primaire avec atteinte osseuse, la maladie de Pagets, le carcinome osseux secondaire et certains cas de sarcome ostéogénique. Une augmentation des taux d'ALP (généralement accompagnée d'une élévation de la GGT) est observée dans les cas de cholestase, d'hépatite, de cirrhose, de lésions occupant de l'espace et de tumeurs malignes avec atteinte osseuse ou hépatique ou production directe. De faibles taux d'ALP peuvent être observés dans des conditions qui provoquent un arrêt de la croissance osseuse ou dans l'hypophosphatasie.

### Principe

Méthode conforme à la recommandation de l'IFCC. Cette méthode utilise le phosphate de 4-nitrophényle comme substrat. Dans des conditions optimales, l'ALP présente dans l'échantillon catalyse la réaction suivante.

#### ALP



Au pH de la réaction, le 4-nitrophénol a une couleur jaune intense. Le réactif contient également un système tampon d'ions métalliques pour garantir le maintien de concentrations optimales de zinc et de magnésium. Le tampon d'ions métalliques peut également chélater d'autres ions inhibiteurs de la porosité qui peuvent être présents. La réaction est contrôlée en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 ou 415 nm, qui est proportionnel à l'activité de l'ALP dans le sérum.

### Composition du réactif

#### Réactif 1 : Phosphatase alcaline Réactif

2-AMP	:	>250 mmol/L
Mg+2	:	>2 mmol/L
Zn+2	:	>10 mmol/L
HEDTA	:	>1,5 mmol
PNPP	:	< 10 mmol/l

### Préparation du réactif

Le réactif est liquide, prêt à l'emploi.

### Stabilité et stockage

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon et l'étiquette du kit lorsqu'ils sont conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C.

### Matériel requis mais non fourni

- Récipient propre et sec.
- Pipettes ou Micropipettes et embouts.
- Colorimètre ou analyseur biochimique.

### Collecte et manipulation des échantillons

Utiliser du sérum, du plasma (héparine). Il est recommandé de suivre les procédures du NCCLS (ou des conditions normalisées similaires).

### Stabilité dans le sérum/plasma :

4 heures	:	à 20 - 25 °C
3 jours	:	à 4 - 8 °C
2 mois	:	à -20 °C

Jeter les échantillons contaminés.

### Contrôle de qualité

Il est recommandé d'analyser des sérums de contrôle normaux et anormaux pour valider la performance des réactifs.

### Conversion des unités

$$\text{U/l} \times 0,017 = \mu\text{kat/l}$$

### Valeurs attendues

Enfants (3-15 ans)	:	104 - 309 U/L
Adultes	:	25 - 140 U/L

Il est recommandé à chaque laboratoire de vérifier cet intervalle ou de dériver un intervalle de référence pour la population qu'il dessert.

### Données de performance

Les données contenues dans cette section sont représentatives de notre système. Les données obtenues dans votre laboratoire peuvent différer de ces valeurs.

Limite de quantification : 10.0 U/L

Linéarité : 1600 U/L

Plage de mesure : 10.0 1600 U/L

Précision intra-essai A l'intérieur d'un cycle (n=20)	Moyenne (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Échantillon 1	83	1.60	1.92
Échantillon 2	399	5.24	1.31
Précision inter-essais D'un essai à l'autre (n=20)	Moyenne (U/L)	SD (U/L)	CV (%)
Échantillon 1	95	0.65	0.69



### Comparaison

Une comparaison entre le test GDP PAL (y) et un test disponible dans le commerce (x) en utilisant 20 échantillons a donné les résultats suivants :

$$Y = 1.006x - 1.19U/L$$

$$R = 0.998$$

### SPÉCIFICITÉ/INTERFÉRENCES

Aucune interférence jusqu'à :

Hémoglobine	5 g/l
Bilirubine	40mg/dL
Triglycérides	2000mg/dL

### Gestion des déchets

Veuillez-vous référer aux exigences légales locales.

### Procédure d'essai

Longueur d'onde : 405 nm

Cuvette : 1 cm

Séquence d'addition	Volume
Réactif 1	1000 µl
Échantillon	20 µl

Bien mélanger et lire l'absorbance initiale après 1 minute et répéter la lecture de l'absorbance toutes les 1, 2, 3 minutes. Calculer la variation d'absorbance après 1 minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).

Calcul

### Utilisation du facteur

ALP (U/L)	=	f x $\Delta A/\text{min}$
f	=	facteur
f	=	2764 (à 405 nm)

### Paramètres d'essai pour les photomètres

Mode	Cinétique
Longueur d'onde (nm)	405
Volume de l'échantillon (µl)	20
Volume de réactif (µl)	1000
Temps de latence (sec.)	60
Intervalle cinétique (sec.)	60
Nombre d'intervalles	3
Facteur cinétique	2764
Température de réaction (°C)	37
Normal Faible (U/L)	25
Normal Élevé (U/L)	140
Linéarité Faible (U/L)	10
Linéarité élevée (U/L)	1600
En blanc avec	L'eau
Unité	U/L

### Références

1. Zilva JF, Panall PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in

La chimie clinique dans le diagnostic et le traitement. Lloyd

Londres 1979 : Chapitre 15 : 343

2. manuel de chimie clinique et de biologie moléculaire de Tietz

de Tietz. Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns, D.E. ; 5<sup>e</sup>

édition, WB Saunders Comp., 2012.

3. Kaplan et Pesce (Eds.) Clinical Chemistry, Theory

analysis and correlation. Deuxième édition. CV Mosby Co.

1989

