

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B1631	200 / 600	R1	6 x	47 ml
		R2	6 x	13 ml
B1633	300 / 600*	R1	6 x	55 ml
		R2	6 x	14 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

In vitro test for the quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP) in human serum and plasma.

Summary:

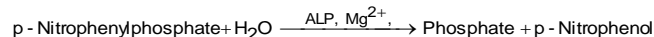
Alkaline phosphatase in serum consists of four structural genotypes: the liver-bone-kidney type, the intestinal type, the placental type and the variant from germ cells. It occurs in osteoblasts, hepatocytes the kidneys, spleen, placenta, prostate, leukocytes and the small intestine. The liver-bone-kidney type is particularly important.

A rise in the alkaline phosphatase activity occurs with all forms of cholestasis, particularly with obstructive jaundice. It is also elevated in diseases of the skeletal system, such as Paget's disease, hyperparathyroidism, rickets and osteomalacia, as well as with fractures and malignant tumors. A considerable rise in the alkaline phosphatase activity is sometimes seen in children and juveniles. It is caused by increased osteoblast activity following accelerated bone growth. Various reference values for the purposes of clinical evaluation have been assigned to differing age groups.

In 1946, Bessey, Lowry and Brock published a method for the determination of alkaline phosphatase using p-nitrophenyl phosphate as substrate buffered with glycine/NaOH. In 1967, Hausamen et al improved the method by using diethanolamine as buffer. The assay described here meets the recommendations of the IFCC.

Test principle:

Colorimetric assay in accordance with a standardized method.



In the presence of magnesium and zinc ions, p-nitrophenylphosphate is hydrolyzed by phosphatases to form phosphate and p-nitrophenol. In this process AMP serves as transient phosphate acceptor. The release of coloured p-nitrophenol is proportional to the ALP activity and can be measured photometrically.

Reagent concentration:

R1:	
AMP* buffer, pH 10.44 (30°C)	1.0 mol/l
Magnesiumacetate	2.0 mmol/l
Zincsulfate	0.5 mmol/l
EDTA	2.0 mmol/l
Detergents and stabilizers	<0.1%
R2:	
p - Nitrophenylphosphate	70.0 mmol/l
Stabilized liquid	
*2-Amino-2-methyl-1-propanol	

Preparation and stability:

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Onboard stability:	R1:	42 days
	R2:	42 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.
Heparinized plasma.

Stability:	2 days	at +20°C to +25°C
	7 days	at +4°C to + 8°C
	4 weeks	at -20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 40 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin: 40 mg/dl)

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 300 (approximate hemoglobin concentration: 300 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1200 (approximate triglycerides concentration: 2400 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Measuring /reportable range:

30 - 450 U/l (0.5 - 7.5 µkat/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl solution as diluent

Expected values:

		+37°C
U/l	Men	40-129
	Women	35-104
µkat/l	Men	0.67-2.15
	Women	0.58-1.74

For reference values for children, please refer to „Pediatric reference ranges“ 3. Edition. S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks, AAC Press.

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes, the alkaline phosphatase results should always be assessed in conjunction with the patients' medical history, clinical examination and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 0.3 U/l or 0.005 µkat/l

The lower detection limit represents the lowest measurable ALP concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples and controls within run (n = 20). The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	82.5	4.21	5.1
Sample 2	242.7	3.61	1.5
Sample 3	235.5	4.89	2.1

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol within (between day n = 20). The following results were obtained:

Sample	Run to run		
	Mean U/l	SD U/l	CV %
Sample 1	84.5	1.37	1.62
Sample 2	197.9	2.59	1.31
Sample 3	242.5	3.68	1.52

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest® ALP IFCC (y) against a commercial obtainable IFCC assay (x) with 133 samples gave the following result:

$$y = 0.921 x + 2.308; \quad r = 0.9990$$

Quality Control:

Human Control Serum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Fluitest[®] ALP IFCC

ALKALINE PHOSPHATASE



Calibration:

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal[®] E 10 x 3 ml #1430

Calibration frequency:

Two-point calibration is recommended

- after reagent lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bessey OAH et al. J Biol Chem 1946;164:321.
2. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase. Z klin Chem u klin Biochem 1972;10:191.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
4. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
5. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
6. Hausamen TU et al. Clin Chim Acta 1967;15:241.
7. Rosalki SB, Foo AY, Burlina A et al. Multicenter Evaluation of Iso ALP Test Kit for Measurement of Bone Alkaline Phosphatase Activity in Serum and Plasma. Clin Chem 1993;39:648-652.



BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B1631	200 / 600	R1 6 x 47 ml
		R2 6 x 13 ml
B1633	300 / 600*	R1 6 x 55 ml
		R2 6 x 14 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

In vitro Test zur quantitativen Bestimmung der alkalischen Phosphatase (ALP) in Humanserum und -plasma.

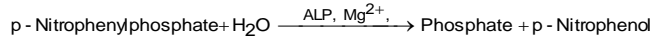
Zusammenfassung:

Die alkalische Phosphatase im Serum besteht aus 4 strukturellen Genotypen, dem Leber-Knochen-Nieren-Typ, dem intestinalen Typ, dem plazentalen Typ und der Variante aus den Keimzellen. Sie kommt in den Osteoblasten, Hepatozyten, der Niere, Milz, Placenta, Prostata, den Leukozyten und im Dünndarm vor. Eine besondere Bedeutung hat der Leber-Knochen-Nieren-Typ. Erhöhungen der alkalischen Phosphatase treten bei allen Formen der Cholestase, besonders bei Verschlussikterus, auf. Sie ist ebenfalls bei Erkrankungen des Skelettsystems wie Morbus Paget, Hyperparathyreoidismus, Rachitis und Osteomalazie, bei Frakturen und malignen Tumoren erhöht. Einen starken Aktivitätsanstieg der alkalischen Phosphatase kann man zeitweise bei Kindern und Jugendlichen beobachten. Er wird durch vermehrte Osteoblastentätigkeit infolge beschleunigten Knochenwachstums verursacht. Für die verschiedenen Altersstufen werden deshalb auch unterschiedliche Referenzwerte der klinischen Bewertung zugrundegelegt.

1946 wurde von Bessey, Lowry und Brock die Bestimmung der alkalischen Phosphatase mit p-Nitrophenylphosphat als Substrat und Glycin/NaOH als Puffer beschrieben. Hausamen et al verbesserte 1967 mit Einführung des Diethanolamin-Puffers die Bestimmung. Die vorliegende Methode entspricht den Vorgaben der IFCC.

Testprinzip:

Farb-Test nach einer standardisierten Methode.



p-Nitrophenylphosphat wird in Gegenwart von Magnesiumionen durch Phosphatasen in Phosphat und p-Nitrophenol gespalten. Dabei dient AMP als transients Phosphatgruppenakzeptor. Das dabei freigesetzte farbige p-Nitrophenol ist proportional der ALP- Aktivität und wird photometrisch gemessen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
AMP* Puffer, pH 10.44 (30°C)	1,0 mol/l
Magnesiumacetat	2,0 mmol/l
Zinksulfat	0,5 mmol/l
EDTA	2,0 mmol/l
Detergenzien und Stabilisatoren	<0,1%
R2:	
p - Nitrophenylphosphat (stabilisiert)	70,0 mmol/l
*2-Amino-2-methyl-1-propanol	

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig

Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität:	R1	42 Tage
	R2	42 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.
Heparin-Plasma.

Haltbarkeit:	2 Tage	bei +20°C bis +25°C
	7 Tage	bei +4°C bis +8°C
	4 Wochen	bei -20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 40 (ca. 40 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 300 (ca. 300 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1200 (ca. 2400 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Reagenzien wie vorher angegeben.

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben.
• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

30 - 450 U/l (0,5 - 7,5 μ kat/l)

Proben mit höheren Aktivitäten werden über die Rerun-Funktion mit NaCl-Lösung (0,9%) bestimmt.

Referenzbereich:

		+37°C
U/l	Männer	40-129
	Frauen	35-104
μ kat/l	Männer	0,67-2,15
	Frauen	0,58-1,74

Referenzbereiche für Kinder bitte dem Buch „Pediatric reference ranges“3. Auflage. S.J. Soldin, C. Brugnara, I.M. Hicks AACC Press entnehmen.

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patienten-gruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse der alkalischen Phosphatase stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0,3 U/l bzw. 0,005 μ kat/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Aktivität der alkalischen Phosphatase, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die serielle Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	82,5	4,21	5,1
Probe 2	242,7	3,61	1,5
Probe 3	235,5	4,89	2,1

Die Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	Tag / Tag		
	MW U/l	SD U/l	VK %
Probe 1	84,5	1,37	1,62
Probe 2	197,9	2,59	1,31
Probe 3	242,5	3,68	1,52

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest® ALP IFCC (y) mit einem kommerziell erhältlichen IFCC Test (x) wurde mit 133 Proben folgendes Ergebnis ermittelt:
 $y = 0,921 x + 2,308$; $r = 0,9990$

Kalibration:

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E

10 x 3 ml

#1430

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Controptath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Zweipunktkalibration wird empfohlen bei

- Reagenzchargenwechsel
- wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bessey OAH et al. J Biol Chem 1946;164:321.
2. Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie. Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase. Z klin Chem u klin Biochem 1972;10:191.
3. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-474.
4. Greiling H, Gressner AM (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995.
5. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
6. Hausamen TU et al. Clin Chim Acta 1967;15:241.
7. Rosalki SB, Foo AY, Burlina A et al. Multicenter Evaluation of Iso ALP Test Kit for Measurement of Bone Alkaline Phosphatase Activity in Serum and Plasma. Clin Chem 1993;39:648-652.