

# Porovnání stanovení katalytické koncentrace ALP rutinní metodou ALP (Roche Diagnostics) a metodou Alkalická fosfatáza (BLW Diagnostics)

<sup>1</sup>Dobrovolná, H., <sup>1,2,3</sup>Soška, V.

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

<sup>2</sup>ICRC - oddělení kardiovaskulárních chorob, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně

<sup>3</sup>Katedra laboratorních metod, Lékařská fakulta MU Brno

## SOUHRN

*Cíl studie:* Porovnat stanovení celkové katalytické koncentrace alkalické fosfatázy v séru nebo plazmě rutinní metodou ALP (Roche Diagnostics, dále jen ALP\_Roche) s metodou Alkalická fosfatáza (BLW Diagnostics, dále jen ALP\_BLW), u které je deklarován soulad s primární referenční metodou IFCC z roku 2011. Posoudit vliv standardizace stanovení ALP na hodnocení výsledků patientských vzorků.

*Název a sídlo pracoviště:* Oddělení klinické biochemie, Fakultní nemocnice u sv. Anny v Brně (FNUSA).

*Materiál a metody:* Byl zpracován soubor 135 vzorků od pacientů vyšetřených ve FNUSA. Ve všech vzorcích byla současně stanovena katalytická koncentrace ALP rutinní metodou ALP (Roche Diagnostics) na analyzátoru Modular P a metodou Alkalická fosfatáza (BLW Diagnostics) na analyzátoru Cobas c311. Byla testována nulová hypotéza, že průměrné diference mezi porovnávanými výsledky se statisticky významně neliší od nuly. Ke statistickému hodnocení dat byl použit párový t-test, Wilcoxonův test a test podílu rozptylů (F-test). Bylo provedeno hodnocení systematických odchylek mezi výsledky obou metod a rozdíl v klinickém hodnocení výsledků.

*Výsledky:* V testovaném souboru byl rozdíl v hodnotách ALP stanovených metodou Roche a BLW statisticky významný. Průměrný rozdíl mezi hodnotami ALP\_BLW a ALP\_Roche byl ve skupině všech patientských vzorků 0,58  $\mu\text{kat/l}$ . Průměrná hodnota ALP\_Roche byla 3,036  $\mu\text{kat/l}$ , 95%CI (2,165 – 3,906  $\mu\text{kat/l}$ ). Průměrná hodnota ALP\_BLW byla 3,615  $\mu\text{kat/l}$ , 95%CI (2,563 – 4,666  $\mu\text{kat/l}$ ). Ve skupinách vytvořených podle pohlaví bylo u žen 12 % a u mužů 17 % výsledků ALP, které byly rozdílně hodnoceny z hlediska překročení horních mezí referenčních intervalů metod ALP\_BLW a ALP\_Roche.

*Závěr:* Výsledky stanovení ALP metodami ALP\_Roche a ALP\_BLW byly statisticky významně odlišné. 12 % výsledků u žen a 17 % výsledků u mužů, které byly v referenčních mezích dle ALP\_Roche, bylo nad horním limitem referenčního intervalu dle ALP\_BLW.

*Klíčová slova:* alkalická fosfatáza (ALP), referenční metoda, rutinní metoda, referenční interval.

## SUMMARY

**Dobrovolná H., Soška V.: A comparison between ALP catalytic concentrations determined by the routine ALP measurement (Roche Diagnostics) and those obtained by the alkaline phosphatase approach (BLW Diagnostics)**

*Objective:* The aim of the study was to compare the results of ALP catalytic concentration in serum and plasma determined by the routine ALP method (Roche Diagnostics), with the results of those determined by the alkaline phosphatase approach (BLW Diagnostics), after the IFCC reference method 2011. Assessment was made of the influence of standardization for ALP determination on results in patient samples.

*Setting:* Department of Clinical Biochemistry, St. Anne's University Hospital (FNUSA), Brno.

*Material and Methods:* Single samples were taken from a set of 135 patients examined in FNUSA. The ALP catalytic concentration was determined by the routine ALP method (Roche Diagnostics) on a Modular P analyzer and by the Alkaline phosphatase method (BLW Diagnostics) on a Cobas c311 analyzer. The null hypothesis was that the mean difference between the ALP results compared would not be significantly different from zero in statistical terms. The ALP results were evaluated by paired samples t-test, by Wilcoxon test and by variance ratio test (F-test).

*Results:* In a group of 135 men and women the mean difference between ALP values determined was statistically significantly different between the results of Roche and BLW methods. The mean difference between ALP\_BLW and ALP\_Roche was 0.58  $\mu\text{kat/l}$ . The mean value of ALP\_Roche was 3.036  $\mu\text{kat/l}$ , 95%CI (2.165 – 3.906  $\mu\text{kat/l}$ ). The mean value of ALP\_BLW was 3.615  $\mu\text{kat/l}$ , 95%CI (2.563 – 4.666  $\mu\text{kat/l}$ ). Results that were significantly different in terms of exceeding the upper reference limits in ALP\_Roche and ALP\_BLW appeared in 12% of the female part of the group and 17% in the male part.

*Conclusion:* ALP results determined by the Roche and BLW methods may be different, judged in terms of exceeding upper reference limits for ALP.

*Keywords:* Alkaline phosphatase, reference method, routine method, reference interval.

## Úvod

Stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) v séru nebo plazmě patří mezi základní biochemická vyšetření. Kvalita výsledků z rutinních biochemických laboratoří však nedosahuje očekávané úrovně zejména s ohledem na nedostatečnou standardizaci metody [1]. Z výsledků externího hodnocení kvality [2] je možné usuzovat, že nastavení referenčních mezí stanovení ALP by mělo být přísně vázáno na použitou metodu, výrobci testovacích souprav se však ve svých dokumentech odkazují na literární zdroje.

S rutinně používanou testovací soupravou ALP výrobce Roche Diagnostics se stanovuje ALP na principu metodiky vypracované expertní skupinou IFCC v roce 1983 [3]. Tato metodika však nikdy nebyla oficiálně IFCC odsouhlasena [4]. Firma Roche v roce 2001 tuto metodu stanovení ALP nově aplikovala pro systémy Roche/Hitachi při teplotě 37 °C [5]. V roce 2014 byla upravena kalibrace rutinní metody (firemní kalibrátor byl reassignován) s cílem snížit bias vůči nově doporučené IFCC metodě pro stanovení ALP [4]. Doporučené referenční rozmezí zůstalo beze změn [5].

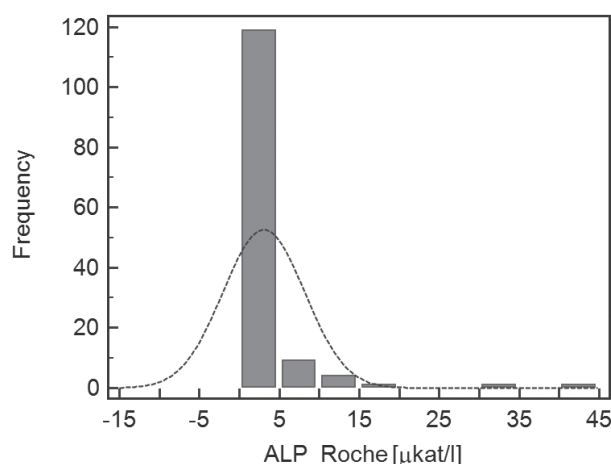
V roce 2015 uvedla na trh firma BLW novou testovací soupravu Alkalická fosfatáza (IFCC), která deklaruje soulad s primární referenční metodou IFCC pro stanovení ALP při 37 °C z roku 2011. Pro tuto metodu byly doporučeny referenční meze na základě studie provedené na souboru 266 pacientů ze tří evropských zemí, (muži ≥ 20 let, ženy 18-49 let) [4].

## Soubor a metody

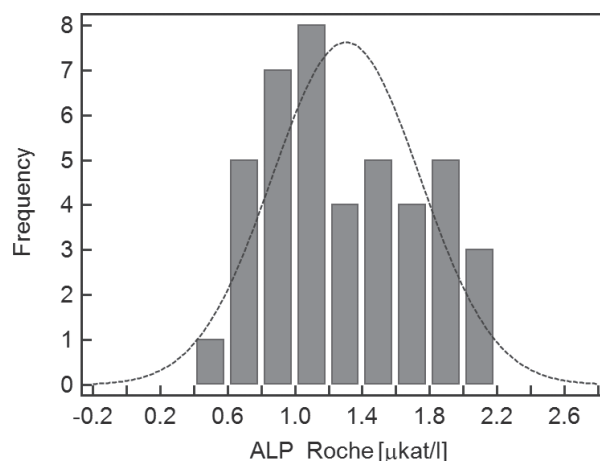
### Soubor nemocných

K vyšetření bylo použito celkem 135 vzorků plazmy nebo séra z období prosinec 2015 a leden 2016, u nichž bylo požadováno stanovení ALP. Krev na biochemická vyšetření byla odebírána do zkumavek Sarstedt o objemu 7,5 ml a 4,9 ml s gelovým aktivátorem srážení (sérum) nebo do zkumavek Sarstedt o objemu 4,9 ml a 2,7 ml s gelem a Li-heparinem (plazma). Výběr vzorků byl prováděn náhodně s cílem získat přibližně stejný počet vzorků mužů i žen a přibližně stejný počet normálních a zvýšených hodnot ALP. Všechny vzorky krve byly do 30 minut po dodání na OKB zcentrifugovány. Jedna skupina (105 vzorků) byla zpracována do čtyř hodin po dodání do laboratoře oběma metodami (ALP\_Roche, ALP\_BLW), druhá skupina (30 vzorků) byla zamrzána a skladována při teplotě -20 °C po dobu 8 – 34 dnů. Zamražené vzorky byly poté zpracovány všechny současně: po rozmražení byly zcentrifugovány (skladováním vznikají mikrosraženiny, které by mohly způsobit chybu měření) a do 30 minut v nich byla stanovena katalytická koncentrace ALP oběma metodami. V obou souborech byla posuzována shoda míry úrovně a variability výsledků ALP\_Roche a ALP\_BLW. Pak byly z celého souboru 135 vzorků vybrány ty, u kterých byly hodnoty ALP, měřené soupravou Roche, v referenčních mezích, a ty byly rozděleny do dvou skupin podle pohlaví. Hodnoty ALP v těchto dvou souborech

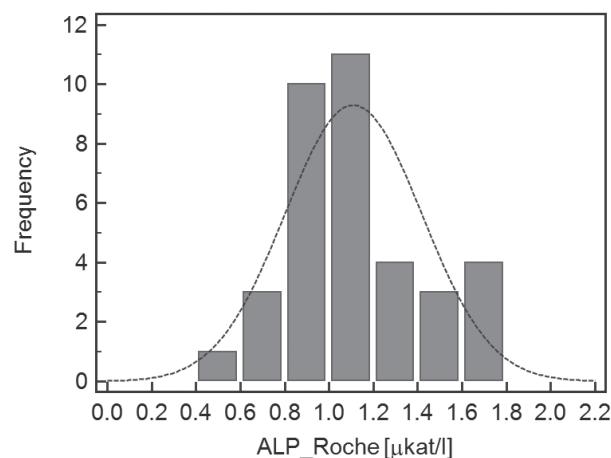
se blížily normálnímu Gaussovu rozložení (obr. 2 a 3). V obou těchto podskupinách byla posuzována shoda míry úrovně výsledků ALP\_Roche a ALP\_BLW. Následně bylo vyhodnoceno, kolik % vzorků, které byly v referenčních mezích dle ALP\_Roche, překročilo horní referenční meze, hodnoceno dle metody ALP\_BLW.



**Fig 1.** Distribution of ALP\_Roche – all patients (group I.).  
Key: ALP\_Roche – serum and plasma ALP catalytic concentration (µkat/l)



**Fig 2.** Distribution of ALP\_Roche – males, values within reference interval (group VI.).  
Key: ALP\_Roche – serum and plasma ALP catalytic concentration (µkat/l)



**Fig 3.** Distribution of ALP\_Roche – females, values within reference interval (group VII.).  
Key: ALP\_Roche – serum and plasma ALP catalytic concentration (µkat/l)

## Metody a výpočty

Stanovení ALP\_Roche bylo provedeno rutinně prováděnou metodou s 2-amino-2-metyl-1-propanolem (testovací souprava ALP, Roche) na analyzátoru Modular P (Roche). Metoda byla nakalibrována na firemní kalibrátor C.f.a.s., který je navázán na metodu Tietz N. W. [3]. Rozšířená kombinovaná nejistota metody byla 29% na hladině ALP 3,139  $\mu\text{kat/l}$  a 30,3% na hladině ALP 8,275  $\mu\text{kat/l}$ . Nejistoty byly stanoveny s využitím materiálu SEKK 3754,3755. Stanovení ALP\_BLW bylo provedeno experimentálně prováděnou metodou s 2-amino-2-metyl-1-propanolem (testovací souprava Alkalická fosfatáza (IFCC), BLW) na analyzátoru Cobas c311 (Roche). Metoda byla nakalibrována na firemní kalibrátor DG-CAL CALIBRATOR, který je navázán na metodu IFCC 2011, 37 °C [4]. Rozšířená kombinovaná nejistota metody byla 4,307% na hladině ALP 7,93  $\mu\text{kat/l}$  a 4,743% na hladině ALP 3,016  $\mu\text{kat/l}$ . Nejistoty byly stanoveny s využitím materiálu: vzorek A, vzorek B z cyklu RfB KS6/15. V Tabulce 1 jsou shrnuty hlavní odchylky metody ALP\_BLW od standardizovaného postupu, kterým byla stanovena hodnota ALP ve firemním kalibrátoru BLW. Výsledky měření materiálů SEKK/RfB Hanover metodou ALP\_BLW jsou uvedeny v Tabulce 2.

## Statistické zpracování dat

Pro ověření rozdílů ve variabilitě hodnot ALP\_Roche a ALP\_BLW byl použit test podílu rozptylů (F-test). Pokud byla p-hodnota tohoto testu menší než  $\alpha = 0,05$  ( $\alpha$  - hladina významnosti), variabilita hodnot mezi

porovnávanými odhady se od sebe lišila signifikantně. Rozdíl v hodnotách ALP stanovených metodami ALP\_Roche a ALP\_BLW byl testován pomocí párového t-testu. P-hodnota vypočteného testovacího kritéria byla použita jako míra statistické významnosti. Pokud byla hodnota p menší než  $\alpha = 0,05$ , difference průměrů porovnávaných souborů se signifikantně lišila od nuly. Vzhledem k nenormálnímu rozložení dat ve skupinách byl také použit Wilcoxonův test, který je neparametrickým ekvivalentem párového t-testu. Pokud p-hodnota statistického kritéria byla menší než  $\alpha = 0,05$ , pak se medián rozdílů porovnávaných dat signifikantně lišil od nuly. Statistické zpracování dat bylo provedeno pomocí programu MedCalc a Excel.

## Výsledky

Četnost pacientů v jednotlivých skupinách je uvedena v Tabulce 3.

Grafické znázornění četnosti pacientů podle rozmezí katalytické koncentrace ALP\_Roche v celém souboru (skupina I.) a v souborech mužů a žen s hodnotami ALP\_Roche v normálním rozmezí (skupina VI. a VII.) je na obr. 1 – 3. Podle očekávání neměl soubor všech pacientů normální rozložení hodnot katalytické koncentrace ALP\_Roche (obr. 1). Ve všech skupinách I. – VII. byla dále provedena korelační analýza. Výsledky ALP\_Roche a ALP\_BLW významně korelovaly ve všech souborech ( $R^2 > 99,6\%$ ,  $p < 0,0001$ ).

**Table 1.** Differences between ALP\_IFCC 2011 and ALP\_BLW

Method	Wave length (nm)	Incubation time (s)	Delay time (s)
ALP_IFCC 2011	405	60	90
ALP_BLW	415	84	84

Key: ALP\_IFCC 2011 – reference ALP measurement method, ALP\_BLW – ALP measurement with BLW reagent kit on a Cobas c311 analyzer

**Table 2.** ALP\_BLW results measured in certificated reference materials

Sample	CRV ( $\mu\text{kat/l}$ )	Measured value ( $\mu\text{kat/l}$ )	Bias (%)
RfB KS6/15 B	3.016	3.15	4.44
SEKK AKS1/16 B	7.068	7.31	3.42
RfB KS6/15 A	7.934	7.89	-0.55

Key: ALP\_BLW – ALP measurement with BLW reagent kit on a Cobas c311 analyzer, CRV – certificated reference values

**Table 3.** Distribution of patients according to storage, gender, reference values.

Group		n
I.	All samples	135
II.	Samples analyzed within 4 hours of delivery	105
III.	Samples analyzed after frozen storage (8 - 34 days, $-20^\circ\text{C}$ )	30
IV.	Males, all samples	62
V.	Females, all samples	73
VI.	Males, values within reference interval (according to ALP_Roche)	42
VII.	Females, with values within reference interval (according to ALP_Roche)	36

Key: ALP\_Roche – ALP measurement method with Roche reagent kit on a Modular P analyzer

**Table 4.** Probability values (p) of F-test addressing statistical significance in differences between the data variability ALP\_Roche and ALP\_BLW for all groups (I. – VII.).

Group	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
No. of samples	135	105	30	62	73	42	36
$P_{0,05}$	0.030*	0.048*	0.317	0.151	0.081	0.479	0.431

\* statistically significant differences

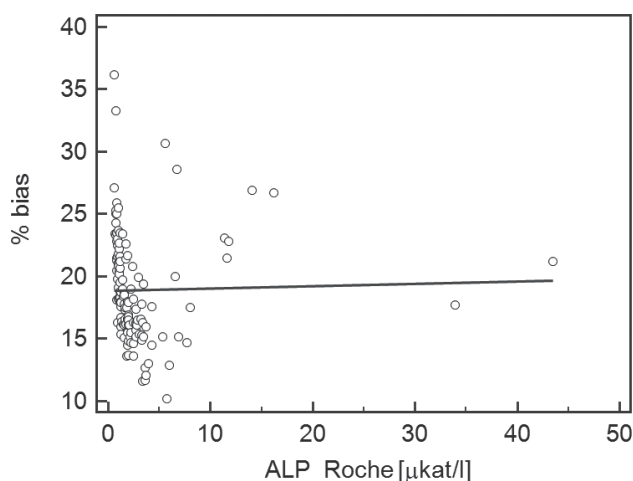
**Table 5.** Probability values (p) of t-test addressing statistical significance in differences between the mean values provided by ALP\_Roche and ALP\_BLW methods ( $p_{0,05}$ ) for all groups and differences between mean values provided by ALP\_Roche and ALP\_BLW for all groups (I. – VII.).

Group	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.
No. of samples	135	105	30	62	73	42	36
$P_{0,05}$	<0.0001*	<0.0001*	0.0008*	0.0005*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*
Mean difference	0.5787	0.3516	1.3737	0.6589	0.5107	0.2390	0.2294

\* statistically significant differences

Variabilita hodnot ALP (porovnání mezi ALP\_Roche a ALP\_BLW) se v hodnocených souborech statisticky významně nelišila. Výjimkou je soubor všech vzorků (skupina I.), v němž byla variabilita hodnot mezi ALP\_Roche a ALP\_BLW statisticky významně odlišná ( $p_{0,05} = 0,03$ ) – viz. Tabulka 4. V tomto souboru byla směrodatná odchylka hodnot získaných metodou ALP\_BLW o 1,06 vyšší než směrodatná odchylka hodnot získaných metodou ALP\_Roche. Ve všech souborech (skupina I. – VII.) byly směrodatné odchylky variabilit ALP\_BLW vyšší než směrodatné odchylky variabilit ALP\_Roche.

Výsledky testování shody mezi výsledky ALP\_Roche a ALP\_BLW ve skupinách I. – VII. jsou uvedeny v Tabulce 5. Ve všech skupinách jsou rozdíly mezi průměrnými hodnotami ALP\_Roche a ALP\_BLW statisticky významné na hladině významnosti  $p = 0,05$ . Průměrný rozdíl mezi hodnotami ALP\_BLW a ALP\_Roche ve skupině všech pacientů je  $0,58 \mu\text{kat/l}$ . Na obr. 4 jsou uvedeny rozdíly mezi výsledky ALP\_BLW a ALP\_Roche v procentech (vztaženo na hodnoty ALP\_Roche). Průměrný rozdíl je 18,9%, ale pohybuje se v intervalu 10

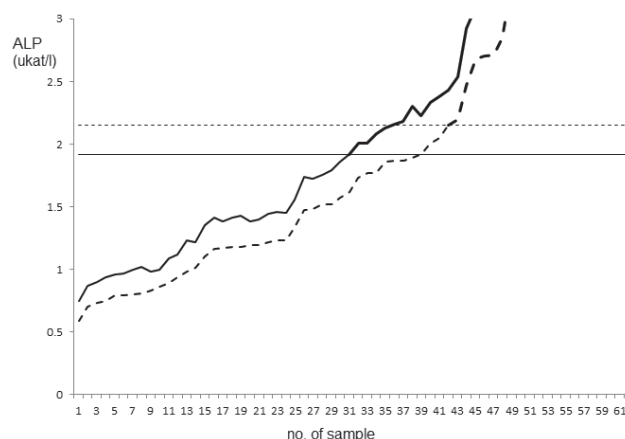


**Fig 4.** Scatter diagram (group I.)

Key: ALP\_Roche – serum and plasma ALP catalytic activity ( $\mu\text{kat/l}$ ), % bias – difference between catalytic concentrations in ALP\_BLW and ALP\_Roche (%)

až 36%. Závislost na hodnotě katalytické koncentrace ALP nebyla prokázána. Ve všech skupinách byl proveden také Wilcoxonův test. P-hodnota testovacího kritéria pro tento test byla ve všech skupinách menší než 0,0001.

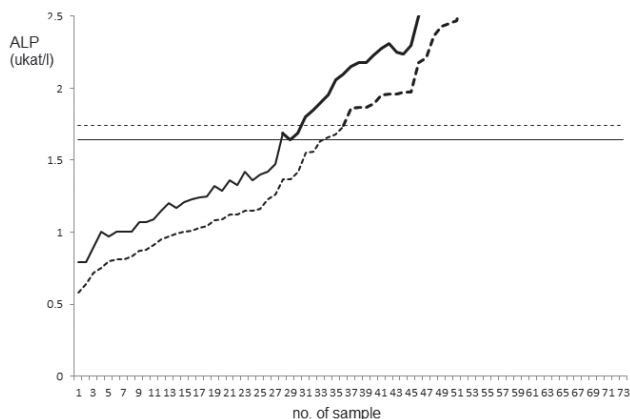
Na obr. 5 a 6 je znázorněno graficky překročení horního referenčního intervalu ALP měřeno metodami ALP\_Roche a ALP\_BLW ve skupinách podle pohlaví (group IV, V.). Ve skupině žen bylo 12% výsledků v referenčních mezích při stanovení metodou ALP\_Roche, ale nad horní hranici referenčních mezí při stanovení ALP\_BLW. Ve skupině mužů bylo 17% výsledků v referenčních mezích při stanovení metodou ALP\_Roche, zatímco při stanovení ALP\_BLW byly nad horní hranici referenčních mezí.



**Fig 5.** Values of ALP\_Roche and ALP\_BLW <  $3,0 \mu\text{kat/l}$  in group IV. (male) with horizontal marking of values exceeding the upper limit of reference interval (ALP\_Roche =  $2,15 \mu\text{kat/l}$  and ALP\_BLW =  $1,92 \mu\text{kat/l}$ )

Key: ALP – serum and plasma ALP catalytic activity ( $\mu\text{kat/l}$ ), solid line – results of ALP\_BLW with marking value of upper reference limit, broken line – results of ALP\_Roche marking value of upper reference limit





**Fig 6.** Values of ALP\_Roche and ALP\_BLW < 2.5 µkat/l in group V. (female) with horizontal marking of values exceeding the upper limit of reference interval (ALP\_Roche = 1.74 µkat/l and ALP\_BLW = 1.64 µkat/l)

Key: ALP – serum and plasma ALP catalytic activity (µkat/l), solid line – results of ALP\_BLW with marking value of upper reference limit, broken line – results of ALP\_Roche marking value of upper reference limit

## Diskuse

V minulých třech dekádách se v laboratořích klinické biochemie využívala ke stanovení ALP řada metodických postupů. Ty se lišily v používaných substrátech (4-nitrofenylfosfát, 1-naftylfosfát), inkubačních a měřících časech, v reakčním pH a zejména v pufrách, které zásadním způsobem ovlivňují výsledky měření ALP. Pufry odvozené od alifatických aminů nejen udržují pH reakce, ale fungují jako akceptory fosfátové skupiny a ovlivňují tak reakční rychlost. Snaha o dosažení srovnatelných výsledků měla za následek mimo jiné i to, že mezi doporučené postupy se nedostala např. často používaná metoda s DEA pufrém a bohužel ani analyticky robustní metoda českých autorů s MEG pufrém [6].

Od roku 2011, kdy byla publikována referenční metoda IFCC pro stanovení katalytické koncentrace ALP, je proces standardizace tohoto vyšetření pomalý. Možnost využít certifikovaný referenční materiál (CRM) pro navázání firemních kalibrátorů je do určité míry omezená jeho dostupností. Mezi požadavky, které musí CRM splňovat, patří mimo jiné i vhodnost jeho použití pro stanovení ALP z hlediska komutability nativních i lyofilizovaných materiálů. CRM také musí mít hodnotu ALP přiřazenou referenčním postupem a musí být testován na stabilitu a homogenitu. Autoři článku publikovaného v roce 2015 [12] zmiňují materiál JC ERM 20327, který však podle dostupných zdrojů má hodnotu ALP stanovenou postupem, který nebyl mezinárodně akceptován [7].

Výrobci diagnostik však volí i jiné postupy. Firma Siemens (metoda ALP AMP, Bayer) dosud využívala ke kalibraci pevnou systémovou hodnotu koeficientu. Ta byla založena na pevně stanoveném molárním extinkčním koeficientu p-nitrofenolu při vlnové délce 410 nm, který byl upraven. Jednalo se o modifikovanou IFCC metodu. Další možností je vytvoření ates-

tu v komutabilním firemním kalibrátoru referenčním postupem. Tuto cestu zvolila firma BLW [8]. V Tabulce 2 jsou uvedeny výsledky měření certifikovaných referenčních materiálů metodou ALP\_BLW. Dosažený bias je srovnatelný s výsledky získanými testovací soupravou ALP Bayer [13]. Firma Siemens však v současnosti metodu ALP AMP nahrazuje novou metodou (ALP\_2c, Bayer), která již má svůj vlastní firemní standard, u něhož výrobce deklaruje návaznost na IFCC metodu [9]. Úspěšná snaha výrobců o přípravu sekundárních referenčních materiálů pro své potřeby je podmíněna skutečností, že výrobce má k dispozici testovací soupravu, jejíž složení se neliší od referenčního postupu (složení reakční směsi, čistota reagentů). O reprodukci referenční metody se pokusili i čínští autoři a porovnávali v rozsáhlém experimentu rutinně používané metody pro stanovení ALP s referenčním postupem. V rámci své studie použili mimo jiné uzavřený systém firmy Roche pro stanovení ALP, jeho kalibrátor však validovali referenčním měřicím postupem [10].

Firma Roche dosud ke standardizaci stanovení ALP nepřistoupila, ale dle interních firemních informací by k ní mohla přistoupit ve druhé polovině roku 2016. Při porovnání výsledků stanovení ALP metodami ALP\_BLW a ALP\_Roche jsme v souboru 135 vzorků zjistili průměrný bias 18,9%. V článku čínských autorů [10] byl rozdíl mezi výsledky ALP stanovenými referenčním postupem a výsledky ALP stanovenými na uzavřeném systému Roche v rozmezí 12 – 16%. V našem souboru pacientů se však hodnoty bias nacházely v intervalu 10% – 36%. Příčina relativně velkého rozptylu bias, zejména v oblasti nižších katalytických koncentrací, není zcela zřejmá. Částečně může být způsobena nižší robustností rutinní metody ALP\_Roche (stabilita reagentů na palubě přístroje, mezilehlá preciznost na hladině 1,51 µkat/l byla 5,2%), zpracovány byly jak vzorky nativní, tak i vzorky skladované v zamraženém stavu.

Z vyhodnocení našich výsledků ALP podle pohlaví je zřejmé, že při případném přechodu z ALP\_Roche na standardizovanou IFCC metodu stanovení ALP by část výsledků byla nově hodnocena jako zvýšené hodnoty ALP. Současně by ale nebylo možné u jednotlivých pacientů deklarovat, jakou měrou by se na případné změně katalytické koncentrace ALP podílel přechod na novou metodu.

Otázkou tedy je, jaké použít referenční intervaly po zavedení metody ALP IFCC 2011 do rutinního provozu. Referenční interval pro metodu ALP IFCC 2011 není dosud uspokojivě vyřešen. Dosud existující referenční intervaly jsou buď předběžné [4], nebo získané jen na lokální bázi. Čínští autoři v rozsáhlém experimentu stanovili referenční interval sérové katalytické koncentrace ALP na skupině dobrovolníků z místní provincie [11]. Použili uzavřený systém Roche a hodnotu ALP ve firemním kalibrátoru C.f.a.s. stanovili referenční metodou v referenční laboratoři. Jejich výsledky se však zcela neshodují s výsledky publikovanými v doporučení IFCC [4]. Tento rozdíl přičítají etnickým rozdílům v testovaných souborech a různým kritériím, podle kterých byly pro studie vzorky vybírány. Podílet se na tom ale může i skutečnost, že současná metoda stanovení ALP firmy

Roche není zcela v souladu s doporučeným postupem IFCC (mimo jiné vlnová délka, složení reakční směsi). Firma Siemens u nyní na trh uváděné testovací soupravy ALP\_2c (Bayer) uvádí jednotný referenční rozsah (0,766 – 1,933  $\mu\text{kat/l}$ ) s odkazem na interní zdroje a s doporučením, aby si každá laboratoř vytvořila svoje vlastní meze. Existující předběžný referenční interval pro metodu ALP IFCC 2011 byl stanoven s využitím interního kalibračního materiálu, ve kterém byla hodnota ALP stanovena referenčním postupem [4]. Jedním z důvodů, proč dosud není otázka referenčního intervalu vyřešena, může být neexistence referenčního materiálu pro metodu ALP IFCC 2011. Pokud se však výrobci podaří uvést na trh standardizovanou metodu stanovení ALP s ověřenou návazností na referenční IFCC 2011, bylo by možné použít již publikované referenční meze 0,72 – 1,92  $\mu\text{kat/l}$  pro muže a 0,55 až 1,64  $\mu\text{kat/l}$  pro ženy [4].

## Závěr

Výsledky stanovení ALP metodami ALP\_Roche a ALP\_BLW byly statisticky významně odlišné. 12 % výsledků u žen a 17 % výsledků u mužů, které byly v referenčních mezích dle ALP\_Roche, bylo nad horním limitem referenčního intervalu dle ALP\_BLW.

## Použité zkratky

AMP	2-amino-2-metyl-1-propanol
C.f.a.s.	Calibrator for automated systems
DEA	dietanolamin
MEG	N-metyl-D-glukamin
IFCC	Mezinárodní federace klinické chemie a laboratorní medicíny
SEKK	systém externí kontroly kvality
RfB	Referenzinstitut für Bioanalytik
CRV	certifikovaná referenční hodnota
CRM	certifikovaný referenční materiál
CI	95% interval spolehlivosti

## Literatura

1. **Sedlák, P., Fridecký, B., Kratochvíla, J., Budina, M.** Stav standardizace stanovení katalytické koncentrace alkalické fosfatázy z pohledu různých programů externích hodnocení kvality. Názor na situaci a její řešení. *Klin. Biochem. Metab.*, 2015, roč. 23(44), č. 1, s. 21-26.

2. Dostupné na webové adrese: <http://www.sekk.cz/> ke dni 4. 3. 2016.
3. **Tietz, N. W., Burtis, C. A., Duncan, P., Ervin, K., Pettitclerc, C. J., Rinker, A. D. et al.** A reference method for measurement of alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin. Chem.*, 1983, 29, 751-761.
4. **Schumann, G., Klauke, R., Canalias, F., Bossert-Reuther, S., Franck, P. F. H., Gella, F. J. et al.** IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 °C. Part 9: Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2011, 49, s. 1439-1446.
5. **Abicht, K., El-Samalouti, V., Junge, W. et al.** Multi-center evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37 °C reference intervals. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2001, 39, Special supplement pp S346.
6. **Chromý, V., Zahradníček, L., Vozniček, J.** Use of N-methyl-D-glucamine as Buffer in the Determination of Serum Alkaline Phosphatase Activity. *Clin. Chem.*, 1981, 27, 1729-1732.
7. <http://www.bipm.org/en/committees/jc/jctlm/>
8. Příbalová informace DG-CAL CALIBRATOR, REF DGQ06.1, BLW Diagnostics, 2015-08-15.
9. Příbalová informace Kalibrátor alkalická fosfatáza\_2 (ALP\_2), REF 10916060, Siemens, 2015-06
10. **Han, L., Wang, J., Li, Y., Zhang, Q., Zheng, S., Lin, H. et al.** Application of New Reference Procedure for ALP Measurement in the Clinical Laboratory. *Clin. Lab.*, 2015, 61, s. 445-452.
11. **Han, L., Wang, J., Li, Y., Zhang, Q., Ke, P., Wu, X. et al.** Development of reference intervals for serum alkaline phosphatase among adults in Southern China traced to the new IFCC reference measurement procedure. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2015, aop cclm-2015-0732.
12. **Fridecký, B., Kratochvíla, J.** Aktuální stav standardizace měření katalytických koncentrací enzymů a srovnatelnosti výsledků. Minireview. *Klin. Biochem. Metab.*, 2015, roč. 23(44), č. 4, s. 165-170.
13. **Sedlák, P., Fridecký, B., Kratochvíla, J.** Experimenty s referenční metodou ALP IFCC 2011. *FONS*, 2015, č. 1, s. 17-19.

Do redakce došlo 13. 4. 2016

Adresa pro korespondenci  
 RNDr. Hana Dobrovolná  
 OKB, FN u sv. Anny v Brně  
 Pekařská 53  
 656 91 Brno  
 e-mail: hana.dobrovolna@fnusa.cz