

Reagente Fosfatasi Alcalina (ALP)

Tampone AMP (IFCC)

SOMMARIO DEL PRODOTTO

Stabilità	:	30 giorni a 2-8°C
Intervallo lineare	:	Fino a 1000 U/L (16,7 µkat/L)
Tipo di campione	:	Siero e Plasma
Metodo	:	Cinetica
Preparazione reagente	:	Aggiunta del volume del tampone specificato.

USO PREVISTO

Questo reagente consente la determinazione quantitativa in vitro dell'ALP (ortofosforico monoestere fosfoidrolasi, alcalino ottimale, EC 3.1.3.1.) nel siero umano o nel plasma.

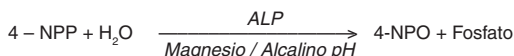
IMPORTANZA CLINICA¹

L'ALP umana consiste in un gruppo di enzimi (almeno 5) che idrolizzano la fosfatasi a un pH alcalino (6-8). L'ALP si trova in quasi tutti i tessuti corporei ma è presente in concentrazioni elevate negli osteoblasti, fegato, placenta, reni, pareti intestinali e nelle ghiandole mammarie durante l'allattamento. Negli adulti l'ALP normalmente in circolazione nel siero deriva in massima parte dal fegato. Nei bambini o negli adolescenti in età puberale vi è un ulteriore contributo da parte delle ossa e questo giustifica l'intervallo di riferimento più elevato per questi gruppi. Anche lo stato di gravidanza può provocare un aumento dei normali valori di ALP.

Livelli elevati di ALP si verificano di frequente in caso di malattie ossee o disturbi epatici che coinvolgono il tratto biliare. In caso di dubbi sull'origine dell'isoenzima, può essere utile una stima della GGT per differenziare i due valori. Un valore alterato della GGT in presenza di ALP elevata potrebbe indicare il fegato come origine principale. Un valore elevato di ALP (in genere con GGT normale) indica osteomalacia e rachitismo, iperparatiroidismo primario con coinvolgimento osseo, malattia di Paget, carcinoma osseo secondario e, in alcuni casi, sarcoma osteogenico. Livelli alterati di ALP (in genere con GGT elevata) indicano colestasi, epatite, cirrosi, lesioni estese e tumori maligni con coinvolgimento osseo o epatico o produzione diretta. Livelli bassi di ALP possono indicare condizioni che causano un arresto dello sviluppo osseo o ipofosfatasi.

METODOLOGIA

Questo metodo della fosfatasi alcalina (ALP) si basa sulle raccomandazioni della federazione internazionale di chimica clinica (IFCC)². Tale metodo utilizza come substrato il 4-nitrofenilfosfato. In condizioni ottimali l'ALP presente nel campione catalizza la seguente reazione di transfosforilazione.



Al pH della reazione il 4-nitrofenossido si presenta di colore giallo intenso. Il reagente contiene anche un sistema di tampone di ione metallico per verificare che le concentrazioni di zinco e magnesio vengano mantenute a un livello ottimale. Il tampone di ione metallico può anche chelare altri ioni potenzialmente inibitori presenti. La reazione viene monitorata misurando la velocità di aumento dell'assorbanza a 405 nm proporzionale all'attività dell'ALP nel siero.

Abbreviazioni

4-NPP = 4-Nitrofenilfosfato
 4-NPO = 4-Nitrofenossido
 AMP = 2-Amino-2-metil-1-propanolo
 ALP = Fosfatasi alcalina

COMPOSIZIONE DEL REAGENTE

Ingredienti attivi

Reagente A:	Concentrazione
4-NPP	16,3 mmol/L
Reagente B:	
AMP	420 mmol/L
Acetato Magnesio	2,4 mmol/L
ZnSO ₄	1,2 mmol/L
HEDTA	2,4 mmol/L

pH 10,7 ± 0,1 a 20°C

SIMBOLI DI ETICHETTATURA PRODOTTO

	Rappresentante autorizzato		Limite di temperatura
	Per uso diagnostico in vitro		Usare entro/Data di scadenza
	Codice/Numero lotto		AVVERTENZA. Consultare le istruzioni d'uso.
	Numero catalogo		Prodotto da
	Consultare le istruzioni d'uso		Reagente A
	Reagente A		Reagente B

AVVERTENZA: Non ingerire. Evitare il contatto con gli occhi e con la pelle. In caso di versamento, lavare l'area interessata con abbondante acqua. Per maggiori informazioni, consultare la documentazione di sicurezza del reagente ALP-AMP (IFCC). La confezione di questo prodotto contiene gomma naturale solida. Manipolare eventuali fiale di vetro rotte con cautela, in quanto i bordi taglienti possono ferire l'utilizzatore.

PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Ricostituire il reagente A con il volume del tampone, del reagente B, indicato sull'etichetta del flacone. Miscelare fino a dissolverlo.

STABILITA' E CONSERVAZIONE

Prima dell'uso:

Se conservato in frigorifero a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla bottiglia e sull'etichetta della scatola del kit.

Reagente ricostituito:

Se conservato chiuso a una temperatura di 2-8°C, il reagente è stabile per almeno 30 giorni.

Indicazioni del deterioramento del reagente:

- Torbidità.
- Assorbanza >0,8 a 405 nm (1cm); e/o
- Mancato recupero dei valori di controllo nell'intervallo assegnato.

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE CAMPIONI²

Siero: Use non-haemolysed serum.

Plasma: Utilizzare eparina. Non utilizzare EDTA, Ossalato o Fluoruro.

Conservazione: L'attività dell'ALP nel siero conservato aumenta nel tempo. L'aumento di attività del siero conservato a temperatura ambiente è minimo fino a 4 ore. L'aumento di attività del siero conservato a 2-8°C o dei sieri congelati dopo il riscaldamento è notevole. La velocità di tale aumento dipende dalla temperatura e dal tempo.

STRUMENTAZIONE AGGIUNTIVA NECESSARIA NON FORNITA

- Se necessario, pipette per il dosaggio accurato dei volumi misurati.
- Un analizzatore chimico clinico in grado di mantenere la temperatura costante (37°C) e misurare l'assorbanza a 405 nm.
- Materiali di consumo specifici per l'analizzatore, ad es.: contenitore campioni.
- Materiale di controllo analizzato normale e anormale

PROCEDURA DI ANALISI

Si consiglia di attenersi ai seguenti parametri di sistema. Singole applicazioni strumentali sono fornite su richiesta dal Gruppo di assistenza tecnica.

PARAMETRI DI SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Lunghezza d'onda	405 nm (405-420 nm)
Lunghezza d'onda secondaria	660 nm (600 - 660 nm)
Tipo di analisi	Velocità/Cinetica
Direzione	Aumento
Campione: Rapporto reagente	1 : 50
ad es. Vol. campione	4 µL
Vol. reagente	200 µL
Ritardo	60 secondi
Tempo di lettura	120 secondi
Limiti Blank del Reagente	Bassi 0,0 AU
(405nm, 1cm percorso della luce)	Alti 0,8 AU
Linearità	Fino a 1000 U/L
(fare riferimento alla sezione Linearità)	(16,7 µkat/L)
Sensibilità Analitica	0,37 ΔmA/min per U/L
(405 nm, 1 cm percorso della luce)	(22 ΔmA/min per µkat/L)

CALCOLO

I risultati vengono solitamente calcolati automaticamente dallo strumento come segue:

Attività in U/L = $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Fattore}$

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

Dove:

- TV = Volume di reazione totale in mL
SV = Volume campione in mL
18,8 = coefficiente di assorbanza millimolare di 4-nitrofenolo a 405 nm
P = Lunghezza di percorso della cuvetta in cm.

Esempio:

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

NOTA

- I volumi di reagente e campione possono essere proporzionalmente variati per adattarsi ai requisiti di spettrofotometri diversi.
- Se la variazione dell'assorbanza è maggiore di 0,37 AU/min, diluire con soluzione fisiologica e analizzare nuovamente. Moltiplicare il risultato finale per il fattore di diluizione.
- La validità dei risultati dipenderà da una accurata calibratura degli strumenti, la distribuzione dei tempi e il controllo della temperatura.
- Conversione unità: $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$.

CALIBRAZIONE

Non necessaria. La velocità di reazione è convertita a U/L di attività mediante un fattore di calcolo. Fare riferimento alla sezione di calcolo di questo inserto.

CONTROLLO QUALITÀ

Per garantire un controllo qualità adeguato i controlli normali e anormali con i valori analizzati devono essere effettuati come campioni sconosciuti:-

- Almeno una volta al giorno oppure secondo quanto stabilito dal laboratorio.
- Quando si utilizza una nuova bottiglia di reagente.
- In seguito a manutenzione preventiva o sostituzione del componente critico.

Risultati di controllo superiori al limite superiore o inferiori al limite inferiore dell'intervallo stabilito indicano che l'analisi potrebbe essere fuori controllo.

In tali situazioni si consiglia di effettuare le seguenti azioni correttive:

- Ripetere gli stessi controlli.
- Se i risultati dei controlli ripetuti non rientrano nei limiti, preparare del siero di controllo nuovo e ripetere il test.
- Se i risultati del materiale appena controllato continuano a non rientrare nei limiti, ripetere il test con reagente appena preparato.
- Se i risultati sono ancora fuori controllo, contattare l'Assistenza tecnica o il distributore locale.

LIMITAZIONI

- Sono stati condotti degli studi per determinare il livello di interferenza da emoglobina, bilirubina e lipemia su un analizzatore automatico di chimica clinica. I risultati ottenuti sono come segue:

Emoglobina: Nessuna interferenza da emoglobina fino a 500 mg/dL

Bilirubina: Nessuna interferenza da bilirubina fino a 340 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL).

Lipemia: Nessuna interferenza da lipemia, misurata come trigliceridi, fino a 4 mmol/L (360 mg/dL).

- Young DS³ ha pubblicato un elenco completo dei farmaci e delle sostanze in grado di interferire con questo saggio.

VALORI PREVISTI

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

I valori indicati sono rappresentativi dell'intervallo previsto per questo metodo e hanno scopo unicamente di guida. Si consiglia ad ogni laboratorio di verificare questo intervallo o di procurare un intervallo di riferimento per la popolazione a cui si riferisce.⁴

PRESTAZIONI

I dati seguenti sono stati ottenuti utilizzando il reagente ALP-AMP (IFCC) su un analizzatore chimico clinico automatico mantenuto in efficienza. Le prestazioni del prodotto devono essere comunque determinate dall'utente sulla base dell'analizzatore utilizzato.

IMPRECISIONE

L'imprecisione è stata valutata utilizzando due livelli di controllo commerciale e seguendo la procedura NCCLS EP5-T.⁵

Nell'esecuzione:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di Punti Dati	80	80
Media (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

Totale:	LIVELLO I	LIVELLO II
Numero di Punti Dati	80	80
Media (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

CONFRONTO DI METODO

Sono stati condotti degli studi utilizzando come riferimento un reagente ALP simile reperibile sul mercato. I campioni di siero e di plasma (Eparina) sono stati analizzati in parallelo e i risultati confrontati con regressioni al minimo quadrato. Le statistiche ottenute sono come segue.

Numero di coppie di campioni	60
Intervallo dei risultati del campione	13 - 1241 U/L (0,217 - 20,7 $\mu\text{kat/L}$)
Media dei risultati del metodo di riferimento	110 U/L (1,83 $\mu\text{kat/L}$)
Media dei risultati ALP-AMP	125 U/L (2,08 $\mu\text{kat/L}$)
Pendenza	1,16
Intercettazione	-2,24 U/L (-0,037 $\mu\text{kat/L}$)
Coefficiente di correlazione	1,000

LINEARITÀ


Quando condotta secondo le raccomandazioni, l'analisi è lineare fino a 1000 U/L (16,7 $\mu\text{kat/L}$).

SENSIBILITÀ ANALITICA

Quando condotta secondo le raccomandazioni, la sensibilità di quest'analisi è 0,37 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ per U/L (22 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ per $\mu\text{kat/L}$).

RIFERIMENTI

- Zilva JF, Pannal 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)



© 2009 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

REF

Dati per nuovi ordini

N°. Catalogo.	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