

Uso previsto

Reagente per la determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina nel siero umano utilizzando gli analizzatori Yumizen C230 e Yumizen C240. Esclusivamente per fini diagnostici *in vitro*. **Solo su prescrizione.**

Interesse clinico

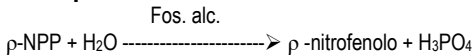
La rilevazione quantitativa della fosfatasi alcalina sierica è interessante ai fini della diagnosi di due gruppi di condizioni patologiche: le malattie epatobiliari e le malattie ossee associate a un'umentata attività osteoblastica.¹

Procedura di analisi

La fosfatasi alcalina nel siero viene determinata misurando la velocità di idrolisi di vari esteri fosfatici in determinate condizioni. Il p-nitrofenilfosfato è uno di questi esteri fosfatici ed è stato utilizzato per la prima volta come substrato da Fujita nel 1939.²

Nel 1946, Bessey, Lowry e Brock³ hanno pubblicato una procedura endpoint, mentre nel 1966 Bowers e McComb⁴ hanno presentato una procedura cinetica. La procedura cinetica ha subito diverse modifiche ed è raccomandata per le analisi di routine.^{5,6} Questo reagente liquido si basa sul metodo raccomandato dall'AACC.⁷

Principio



Il p-nitrofenilfosfato viene idrolizzato in p-nitrofenolo e fosfato inorganico. La velocità di idrolizzazione del p-NPP, rilevata a 405 nm, è direttamente proporzionale all'attività della fosfatasi alcalina.

Composizione dei reagenti

Dopo aver combinato R1 e R2 come indicato, il reagente contiene: tampone AMP (pH 10,45), p-NPP ≤16mM, ioni di magnesio ≥1,0mM, attivatori e conservanti.

Preparazione dei reagenti

I reagenti sono pronti all'uso.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Conservare i reagenti a 2-8°C. Se conservati seguendo le raccomandazioni, i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza. Conservare al riparo da luce diretta ed evitare la contaminazione microbica. **NOTA:** Il reagente R2 è termosensibile e può subire alterazioni in caso di esposizione prolungata a temperatura ambiente. Dopo l'uso, appena possibile riportare il reagente a 2-8°C.

Precauzioni

- Il kit di reagenti può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*.
- Non ingerire alcun materiale, tossicità non accertata.
- Non utilizzare se l'assorbimento del reagente iniziale è superiore a 1,0 se misurato a 405 nm oppure se il reagente non rispetta i parametri indicati.
- Non utilizzare il reagente se non raggiunge i valori indicati nei sieri di controllo o se presenta segni di contaminazione microbica.
- Tutti i campioni e i controlli devono essere trattati secondo le buone pratiche di laboratorio, utilizzando opportune precauzioni descritte nel manuale CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2^a ed., 1988, HHS n.. (CDC) 88-8395.

Raccolta e conservazione dei campioni

- Utilizzare siero non emolizzato (non utilizzare plasma poiché gli agenti anticoagulanti inibiscono l'attività della fosfatasi alcalina).^{8,9}
- I campioni di siero devono essere conservati a 2-8°C e analizzati entro due giorni.¹⁰
- La raccolta dei campioni deve essere effettuata secondo le indicazioni del documento NCCLS M29-T2.¹¹ Nessun metodo può offrire la totale certezza che i campioni di sangue umano non trasmettano infezioni. Pertanto, tutti i campioni di sangue devono essere considerati potenzialmente infettivi.

Interferenze

- Young, et al⁸ presenta un elenco di farmaci e altre sostanze che interferiscono con la determinazione dell'attività dell'ALP.
- Valori di emoglobina fino a 500mg/dl, livelli di bilirubina fino a 20 mg/dl e lipemia / trigliceridi (Intralipid usato come stimolante) fino a 1000mg/dl hanno effetti trascurabili (<10%) sulla metodica. Gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP7-P dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Hitachi 717 serie.¹²

Materiali in dotazione

Reagente R1 per fosfatasi alcalina
 Reagente R2 per fosfatasi alcalina

Materiali necessari non in dotazione

- Analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manuale utente per gli analizzatori Yumizen C230 / Yumizen C240
- Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Parametri di analisi

Analisi:	ALK. PHOS	Sost. chim:	Fosf. alcalina
N. chim.:	201	Nome etich:	Fosf. alcalina
Tipo reazione:	cinetica	Direzione reazione:	positiva
Lungh. d'onda prim.:	405 nm	Lungh. d'onda sec.	670 nm
Decimale:	0	Tipo campione:	siero
T. bianco:		T. reazione:	3 11
Unità:	U/L	T. incubazione:	3

	Vol. campione	Aspirato	Diluyente	Vol. reagente	Diluyente
Standard;	4,5	ul	ul	R1: 180	ul
Decremento; ul		ul	ul	R2: 45	ul
Incremento;		ul	ul		ul

Intervallo linearità (standard); 0-1000	Limite linearità: 0.3
Intervallo linearità (decremento):	Esaurim. substrato:
Intervallo linearità (incremento):	Assorb. bianco mix: - 40000 40000
Assorb. bianco R1: - 40000 40000	Stabilità in macchina: 30
Risposta bianco - 40000 40000	Limite allarme reagente: 5
Doppia chim.:	

Controllo eff. prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Risultato qualitativo:	Intervallo:	Val. fuori norma:
------------------------	-------------	-------------------

Pendenza Offset:	Pendenza	Offset	Unità
	1	0	U/L

Tratt. preliminare:	
Vol. campione pretratt.:	ul
Vol. reagente pretratt.:	ul

Intervallo rif.:	Sesso:	Intervallo età:	Intervallo rif.:	Intervallo critico:	Unità:
------------------	--------	-----------------	------------------	---------------------	--------

Parametri di configurazione della calibrazione

Analisi chim. Fosf. alcalina
 Impostazioni calibr.
 Modello mat.: Fattore K
 Fattore: 2276.000 Repliche: 2
 Limiti accettabilità
 T. calibr.: 24 h
 Diff. pendenza: DS:
 Sensibilità: Ripetibilità: * Def. utente
 Coeff. deter.: Calibr. autom. T. calibr.

Calibratore	Conc.	Pos.	N. lotto:
acqua	0,0	W	

Kit reagenti fosfatasi alcalina Pointe

Limitazioni

- Questa metodologia misura la fosfatasi alcalina totale senza tener conto del tessuto o dell'organo di riferimento. Possono essere necessari altri test per contribuire a una diagnosi differenziale.
- I campioni che superano il limite di linearità (1000 U/L) devono essere diluiti con pari volume di soluzione fisiologica, nuovamente analizzati e i risultati vanno moltiplicati per 2.

Calibrazione

La procedura è standardizzata per mezzo dell'assorbività millimolare del p-nitrofenolo, considerata pari a 18,75 a 405nm nelle condizioni specificate. I risultati si basano sulla variazione dell'assorbanza per unità di tempo; tutti i parametri devono essere noti e controllati.

Calcolo (esempio)

Un'unità internazionale (U/L) è definita come la quantità di enzima che catalizza la trasformazione di una micromole di substrato al minuto in determinate condizioni.

$$(U/L) = \frac{\Delta \text{abs./min.} \times 1000 \times 1,025}{18,75 \times 1 \times 0,025} = \Delta \text{abs./min.} \times 2187$$

con $\Delta \text{abs./min.}$ = variazione media di assorbanza al minuto
 1000 = conversione di U/ml in U/L
 1,025 = volume di reazione totale (ml)
 18,75 = assorbività millimolare del p-nitrofenolo
 0,025 = volume del campione (ml)
 1 = percorso luce in cm

Esempio: Se $\Delta \text{abs./min.} = 0,06$
 allora $0,06 \times 2187 = 131 \text{ U/L}$

NOTA: Se i parametri di analisi vengono modificati, il fattore deve essere ricalcolato utilizzando la formula riportata sopra.

Unità del SI: Per convertire in unità del SI (nkat/l), moltiplicare U/L per 16,67.

Controllo qualità

La bontà della reazione va monitorata utilizzando sieri di controllo con attività normali e patologiche note dell'ALP e i controlli vanno eseguiti in ogni turno in cui si effettuano analisi dell'ALP. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca la frequenza interna dei controlli. Il controllo qualità richiesto va eseguito in conformità con le normative locali, statali e/o federali o con i requisiti di accreditamento.

Valori attesi

Adulti: 35-123 U/L a 37°C. L'intervallo di riferimento si basa su uno studio condotto dal produttore su campioni di 783 adulti apparentemente sani. I bambini presentano un valore normale più elevato. Si raccomanda che ogni laboratorio stabilisca il proprio intervallo di riferimento per la procedura.

Caratteristiche prestazionali specifiche Dati generati su analizzatori Yumizen serie 200.

Intervallo di analisi: 0-1000 U/L.

Accuratezza: Studi comparativi tra l'utilizzo del metodo del reagente liquido per fosfatasi alcalina su analizzatori della serie Yumizen 200 e analizzatori simili hanno prodotto i seguenti risultati:

Metodo	Fosfatasi alcalina
N	59
Fosfatasi alcalina media U/L	198
Intervallo U/L	0-927
Deviazione standard U/L	251
Analisi di regressione	$y = 1,077x - 8,9$
Coefficiente di correlazione	0,993

Precisione:

La precisione intra-giornaliera per il reagente liquido per fosfatasi alcalina è stata rilevata in base a una versione modificata del documento EP5-T217 dell'NCCLS, utilizzando gli analizzatori Yumizen serie 200. Gli studi sulla precisione intra-giornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:

Campione	BASSA	ALTA
N	20	20
Fosfatasi alcalina media U/L	61	171
Deviazione standard U/L	2,5	2,6
Coefficiente di variazione (%)	4,1	1,5

Anche la precisione inter-giornaliera è stata rilevata in base a una versione modificata del documento EP5-T217 dell'NCCLS.¹⁷ Gli studi sulla precisione inter-giornaliera hanno prodotto i seguenti risultati:

Campione	BASSA	ALTA
N	80	80
Fosfatasi alcalina media U/L	81	204
Deviazione standard U/L	2,6	4,1
Coefficiente di variazione (%)	3,3	2,0

Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 0,828 U/L

Riferimenti bibliografici

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 603 (1982).
- Fujita, H., J. Biochem. (Japan) 30:69 (1969).
- Bessey, O.A., Lowry, O.H., Brock, M.J., J. Biol. Chem. 164:321 (1964).
- Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B., Clin. Chem. 12:70 (1966).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Wilkinson, J.H., et al, Clin. Chem. 15:487 (1969).
- Tietz, N.W., et al, Clin. Chem. 29:751 (1983).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p. 927 (1974).
- Rej, R., Clin. Chem. 23:1903 (1977).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- Documento NCCLS "Interference testing in Clinical Chemistry", 2nd Ed. (1992).
- Documento NCCLS "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Legenda

Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)	LOT Codice lotto e gruppo
REF N. catalogo	Fabbricante
IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	Limiti di temperatura
Consultare il manuale utente	Rx Only: utilizzare solo su prescrizione
Marchio CE	EC REP Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea

REF 12-A7516-100 Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188

Prodotto da HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188 Rappresentante autorizzato per l'Europa: Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Bruxelles, BELGIO tel: (32)2.732.59.54 fax:(32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net	
---	--

Reagenti certificati

I reagenti Pointe sono certificati per essere stati prodotti conformemente ai parametri specificati. Se entro la data di scadenza un reagente Pointe dovesse risultare non conforme alle specifiche, sarà prontamente sostituito senza alcun addebito.

Rev. 11/23 P803-A7516-MIN-IT