

Usso previsto

Determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina nel siero umano utilizzando l'analizzatore Yumizen C560. **Solo su prescrizione.**

Interesse clinico

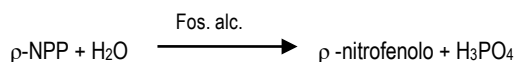
La rilevazione quantitativa della fosfatasi alcalina sierica è interessante ai fini della diagnosi di due gruppi di condizioni patologiche: le malattie epatobiliari e le malattie ossee associate a un'umentata attività osteoblastica.¹

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, misurata 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. Studi condotti dal produttore hanno dimostrato che, dopo essere stati inseriti nell'apposito caricatore refrigerato (2-10°C), i reagenti restano stabili per 30 giorni; tuttavia, la stabilità dei reagenti può variare in base alle condizioni dei singoli laboratori.

Precauzioni e pericoli

1. Il kit di reagenti può essere utilizzato esclusivamente a fini diagnostici *in vitro*. Non ingerire alcun materiale.
2. Non utilizzare se l'assorbanza del reagente iniziale è superiore a 1,0 quando misurata a 405 nm oppure se il reagente non rispetta i parametri indicati.
3. Non utilizzare il reagente se non raggiunge i valori indicati nei sieri di controllo o se presenta segni di contaminazione microbica.
4. 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", 2ª ed., 1988, HHS n. (CDC) 88-8395.

Pericoli:

R1: Classificazione dei pericoli: Corrosione/irritazione cutanea (categoria 1), Lesioni/irritazioni oculari (categoria 2), Sensibilizzazione respiratoria (categoria 1), Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione singola: apparato respiratorio (categoria 1), Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta: apparato respiratorio e denti (categoria 1)

Indicazioni di pericolo: H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari, H319: Provoca grave irritazione oculare, H334: Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato, H370: Provoca danni agli organi, H372: Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

Consigli di prudenza: Prevenzione: P260: Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol, P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso, P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso, P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso, P285: In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio, **Reazione:** P310: Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico, P314: In caso di malessere, consultare un medico, P363: Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.

P301 + P330 + P331: IN CASO DI INGESTIONE: Sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia, P304 + P340: IN CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione, P305+ P351+ P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo P337+ P313: Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico. **Conservazione:** P404: Conservare in un recipiente chiuso. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto nella rete fognaria dopo averlo diluito con abbondante acqua, se in conformità con le normative locali.

R2: Classificazione dei pericoli: Corrosione/irritazione cutanea (categoria 2), Lesioni/irritazioni oculari (categoria 2), Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione singola: fegato, reni, sistema nervoso centrale, occhi (categoria 2); Tossicità specifica per organi bersaglio – esposizione ripetuta: fegato, reni, sistema nervoso centrale (categoria 2), Tossicità riproduttiva (categoria 2), Mutagenicità sulle cellule germinali (categoria 2), Cancerogenicità (categoria 2)

Indicazioni di pericolo: H315: Provoca irritazione cutanea, H319: Provoca grave irritazione oculare, H341: Sospettato di provocare alterazioni genetiche, H351: Sospettato di provocare il cancro, H361: Sospettato di nuocere alla fertilità o al feto, H371: Può provocare danni agli organi, H373: Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta

Consigli di prudenza: Prevenzione: P202: Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze, P260: Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol, P264: Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso, P270: Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso, P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso. **Reazione:** P314: In caso di malessere, consultare un medico, P362: Togliere gli indumenti contaminati, P302 + P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua. P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo P309+ P311: In caso di esposizione o di malessere: Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico, P332 + P313: In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico, P337 + P313: Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico. **Conservazione:** P404: Conservare in un recipiente chiuso. **Smaltimento:** P501: Smaltire il prodotto presso un impianto di smaltimento autorizzato. **Consultare la Scheda di sicurezza del prodotto (SDS-A7516) disponibile chiamando il numero: 1-734-487-8300.**

Raccolta e conservazione dei campioni

1. Utilizzare siero non emolizzato (non utilizzare plasma poiché gli agenti anticoagulanti inibiscono l'attività della fosfatasi alcalina).^{8,9}
2. I campioni di siero devono essere conservati a 2-8°C e analizzati entro due giorni.¹⁰
3. 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.



Parola segnaletica:
Pericolo

Kit reagent fosfatasi alcalina Pointe

Interferenze

1. Young, et al⁸ presenta un elenco di farmaci e altre sostanze che interferiscono con la determinazione dell'attività dell'ALP.

Materiali in dotazione

Fosfatasi alcalina, numero di catalogo: 14-A7516-225

Materiali necessari non in dotazione

1. Analizzatore Yumizen C560.
2. Manuale utente per l'analizzatore Yumizen C560.
3. Controllo chimico, numero di catalogo C7592-100

Limitazioni

1. 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.
2. I campioni con valori superiori a 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.

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 ai 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.

Prestazioni

1. Intervallo di analisi: 2-1000 U/L.
2. Comparazione: È stato condotto uno studio comparativo tra l'impiego dell'analizzatore Yumizen C560 e di un analizzatore simile per l'applicazione del metodo. I risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Metodo	Fosfatasi alcalina
N	81
Fosf. alc. media (U/L)	126,5
Intervallo (U/L)	19-833
Deviazione standard	147,7
Analisi di regressione	$y = 1,063x - 9,7$
Coefficiente di correlazione	0,9987

3. Precisione: gli studi sulla precisione sono stati condotti seguendo una modifica delle linee guida contenute nel documento EP5-T2 dell'istituto NCCLS e utilizzando l'analizzatore Yumizen C560.¹³

Campione	Intra-giorn.			Totale		
	BASSA	MEDIA	ALTA	BASSA	MEDIA	ALTA
N	20	20	20	40	40	40
Media	88,6	302,1	887,3	89,5	311,2	870,7
Deviazione standard	1,1	1,2	3,6	4,2	12,5	23,0
Coefficiente di variazione (%)	1,3%	0,4%	0,4%	4,7%	4,0%	2,6%

4. Sensibilità: 2SD limite di rilevabilità (95% conf) = 2 U/L

Riferimenti bibliografici

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

PARAMETRI CHIMICI

Analisi chim.:	ALKP	N. 201	Tipo campione:	siero	
Denominazione:	Fosfatasi alcalina		Nome etichetta:	ALKP	
Tipo reazione:	cinetica		Direzione reazione:	Positiva	
Lungh. d'onda prim.:	412		Lungh. d'onda sec.:	660	
Unità:	U/L		Decimale	0	
T. bianco:	0	0	T. reazione:	56 71	
	Vol. campione	Aspirato	Diluente	Vol. reagente	Diluente
Standard:	3.0 ul	--- ul	--- ul	R1: 120 ul	--- ul
Decremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R2: 30 ul	-- ul
Incremento:	--- ul	--- ul	--- ul	R3: --- ul	-- ul
	<input type="checkbox"/> Bianco camp.	<input checked="" type="checkbox"/> Ripetiz. automat.		R4: --- ul	--- ul
<u>Regolazione pendenza/ Offset</u>					
Pendenza: 1		Offset: 0			

Intervallo linearità (standard)	2	1000	Limite linearità:	0.3
Intervallo linearità (decremento)	---	---	Esaurim. substrato:	25000
Intervallo linearità (incremento)	---	---	Assorb bianco mix:	
Assorb bianco R1:	---	---	T. apertura	
Risp. bianco:	---	---	Limite allarme reag.:	
Doppia chim.:			<input type="checkbox"/> Est. Lineare enzimi	
<input type="checkbox"/> Controllo eff. prozona		<input type="radio"/> Controllo livello	<input type="radio"/> Aggiunta antigene	
Q1:	Q2:	Q3:	Q4:	
PC:	ABS:			

Kit reagent fosfatasi alcalina Pointe

PAMETRI DI CALIBRAZIONE

Definizione calibratore

Calibratore: * N. lotto: *
Data di scadenza: *

Caricatore

Pos.

Caricatore campioni 1

*

Caricatore campioni 2

Caricatore campioni 3

Reagente/calibrazione

Calibratore	Pos.	N. lotto	Data scad.	Analisi	Conc.	Unità
Acqua	W	*	*	ALKP	0	U/L

Configurazione calibrazione

Analisi chim.: ALKP

Impostazioni calibr.

Modello mat.: Fattore K

Fattore: 2708 Repliche: 1

Limiti accettabilità

T. calibr.: 24 h

Diff. pendenza: --- DS: ---

Sensibilità: --- Ripetibilità: ---

Coeff. deter.: ---

Calibr. autom.

Cambio flacone Cambio lotto Ora cal.

Si raccomanda di analizzare quotidianamente due livelli di materiale di controllo.

* Indica un parametro definito dall'utente.

REF 14-A7516-225



Prodotto da
HORIBA Instruments Incorporated-Pointe Brand
5449 Research Drive Canton, MI 48188



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.

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



Legenda



Utilizzare entro (aaaa-mm-gg)



Codice lotto e gruppo



N. catalogo



Fabbricante



Limitazioni di temperatura



Consultare il manuale di istruzioni