

ABX Pentra ALP CP

Applicazione mono-reagente

■ Pentra C400

REF	A11A01626
REAGENT 1	26 mL
REAGENT 2	6,5 mL



HORIBA ABX SAS
Parc Euromédecine
Rue du Caducée
BP 7290
34184 Montpellier Cedex 4
FRANCE

Reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* della fosfatasi alcalina (ALP) in siero o plasma mediante colorimetria.

Versione dell'applicazione

Siero, plasma: ALPM_R^a (non destinato all'utilizzo negli Stati Uniti)

1.xx

Uso previsto (non destinato all'utilizzo negli Stati Uniti)

ABX Pentra ALP CP è un reagente diagnostico per la determinazione quantitativa *in vitro* della fosfatasi alcalina in siero e plasma umano mediante un test fotometrico cinetico basato sull'utilizzo del p-nitrofenilfosfato. Le misurazioni della fosfatasi alcalina o dei suoi isoenzimi vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento delle epatiti, delle malattie delle ossa, delle malattie paratiroidee e dei disturbi intestinali.

Interesse clinico (1, 2)

La fosfatasi alcalina (ALP), un enzima idrolitico che agisce in modo ottimale a un pH alcalino, si trova in numerose forme distinte nel sangue, prodotte principalmente dal tessuto osseo e dal fegato, ma anche da altri tessuti, quali i reni, la placenta, l'intestino, lo scroto, il timo, i polmoni e i tessuti tumorali. Gli aumenti fisiologici sono osservabili durante la crescita ossea nei bambini e in gravidanza, mentre gli aumenti patologici sono in gran parte associabili a patologie epatobiliari e alle malattie delle ossa. Nelle patologie epatobiliari, questi aumenti sono indicatori dell'ostruzione dei dotti biliari come nella colestasi provocata da calcoli biliari, tumori o infiammazioni. Un'attività elevata è osservabile anche in caso di epatite A. Nelle malattie delle ossa, l'elevata

attività dell'ALP dipende da un aumento dell'attività osteoblastica, come nel caso del morbo di Paget, dell'osteomalacia (rachitismo), delle metastasi alle ossa e dell'iperparatiroidismo.

Metodo (3)

Test fotometrico cinetico in conformità a quanto stabilito dalla Federazione internazionale di chimica clinica (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC).



(ALP = Fosfatasi alcalina)

Reagenti

ABX Pentra ALP CP è pronto per l'uso.**Reagente 1:**

2-Amino-2-metil-1-propanolo pH 10,4	440 mmol/L
Magnesio solfato	2,0 mmol/L
Solfato di zinco	1,25 mmol/L
HEDTA	2,5 mmol/L
Sodio azide	< 1 g/L

Reagente 2:

p-nitrofenilfosfato	80 mmol/L
Sodio azide	< 1 g/L

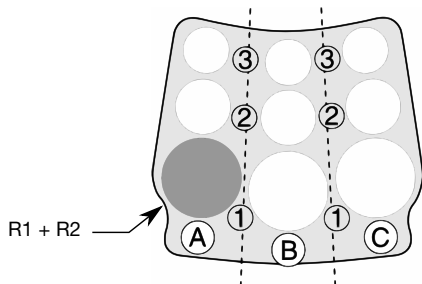
ABX Pentra ALP CP deve essere utilizzato in conformità alle presenti indicazioni. Il produttore non garantisce le prestazioni in caso di utilizzo non conforme.

^aModifica: modifica della versione dell'applicazione.

ABX Pentra ALP CP

Manipolazione

1. Trasferire il volume totale del reagente R2 nel comparto del reagente R1.
2. Richiudere i comparti e omogeneizzare la miscela capovolgendo con delicatezza.
3. Versare il volume di soluzione necessario per l'attività di laboratorio quotidiana in una fiala di reagente da 15, 10 o 4 mL.
4. Collocare la fiala in posizione 1 in uno degli spazi disponibili.
Utilizzare una delle seguenti soluzioni:
 - una fiala di reagente da 15 mL
 - una fiala di reagente da 10 mL + apposito adattatore
 - una fiala di reagente da 4 mL + apposito adattatore



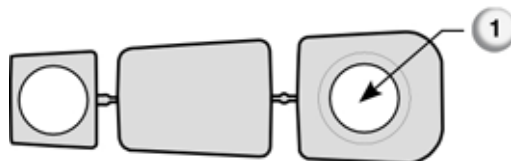
5. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
6. Collocare il rack reagenti nel comparto refrigerato dei reagenti di Pentra C400.

Importante: eliminare il reagente residuo al termine della giornata.

Manipolazione in cassetta

1. Trasferire il volume totale del reagente R2 nel comparto del reagente R1.
2. Richiudere i comparti e omogeneizzare la miscela capovolgendo con delicatezza.
3. Identificare la cassetta utilizzando le apposite etichette per reagenti con codice a barre (614).

4. Trasferire il reagente nel comparto 1 (capacità 30 mL) della cassetta 30/10 fornita (vedere lo schema riportato di seguito).
Il comparto 2 della cassetta non verrà utilizzato.



5. Eliminare l'eventuale schiuma utilizzando una pipetta di plastica.
6. Collocare il coperchio protettivo, rif. GBM0969, sulla cassetta.
7. Collocare la cassetta dei reagenti in una posizione disponibile sul piatto reagenti nel comparto refrigerato di Pentra C400.

Calibratore

Ai fini della calibrazione, utilizzare gli elementi descritti di seguito.

ABX Pentra Multical (A11A01652) (non incluso)
10 x 3 mL (liofilizzato)

Controllo ^b

Ai fini del controllo qualità interno, utilizzare gli elementi descritti di seguito:

- **ABX Pentra N MultiControl** (1300054414) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)
- **ABX Pentra P MultiControl** (1300054415) (non incluso)
10 x 5 mL (liofilizzato)

Analizzare ogni controllo quotidianamente e/o dopo una calibrazione.

La frequenza dei controlli e i limiti di fiducia devono essere conformi alle istruzioni di laboratorio e alle direttive specifiche del singolo paese. Per l'analisi dei materiali di controllo della qualità, attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali. I risultati devono essere compresi nel range dei limiti di fiducia definiti. Ciascun laboratorio è tenuto a fissare una procedura da seguire nel caso in cui i risultati oltrepassino detti limiti di fiducia.

^bModifica: il controllo è stato rimosso.

ABX Pentra ALP CP

Materiali necessari non in dotazione ^b

- Analizzatore automatico di chimica clinica: Pentra C400
- Calibratore: **ABX Pentra Multical** (A11A01652)
- Controlli:
 - ABX Pentra N MultiControl** (1300054414)
 - ABX Pentra P MultiControl** (1300054415)
- Attrezzature standard per laboratorio.

1 mese - 1 anno	[U/L]	124 - 341	82 - 383
1 - 3 anni	[U/L]	108 - 317	104 - 345
4 - 6 anni	[U/L]	96 - 297	93 - 309
7 - 9 anni	[U/L]	69 - 325	86 - 315
10 - 12 anni	[U/L]	51 - 332	42 - 362
13 - 15 anni	[U/L]	50 - 162	74 - 390
16 - 18 anni	[U/L]	47 - 119	52 - 171

Campione ^c

La popolazione a cui è destinato questo dispositivo è la popolazione generale.

Tipi di campioni

- Siero.
- Plasma in litio eparina.

Gli anticoagulanti non riportati nell'elenco non sono stati testati da HORIBA Medical. Il loro utilizzo con questa analisi è pertanto sconsigliato.

Stabilità (4)

- A 20°C: perdita di attività entro 3 giorni: 3%
- A 4-8°C: 1 settimana

Range di riferimento ^d

Ogni laboratorio deve determinare i propri range di riferimento. I valori forniti in questo documento sono puramente indicativi.

Adulti (37°C): (5)

Donne 20 - 50 anni	[U/L]	42 - 98
Uomini 20 - 50 anni	[U/L]	53 - 128
Donne > 60 anni	[U/L]	53 - 141
Uomini > 60 anni	[U/L]	56 - 119

Bambini (37°C): (6)

		Femmine	Maschi
1 - 30 giorni	[U/L]	48 - 406	75 - 319

La sensibilità e la specificità clinica, il valore predittivo positivo e il valore predittivo negativo non vengono comunemente riportati per questo analita. Questo è in gran parte dovuto al fatto che questo analita non è l'unico indicatore per lo scopo previsto e la decisione di trattamento del paziente. Per arrivare a una diagnosi e a un corso di trattamento, è necessario utilizzare i risultati di altri esami clinici di laboratorio di routine insieme ad altre informazioni diagnostiche e alla valutazione delle condizioni del paziente da parte del medico curante.

Conservazione e stabilità

Stabilità prima dell'apertura:

Stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservato a una temperatura di 2-8°C.

Stabilità dopo l'apertura:

Vedere il paragrafo "Prestazioni con Pentra C400".

Non congelare.

Gestione dei rifiuti

- Attenersi alle disposizioni locali.
- Questo reagente contiene meno dello 0,1% di sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire con piombo e rame e formare un complesso metallo-azide esplosivo.

^bModifica: il controllo è stato rimosso.

^cModifica: modifica del paragrafo "Campione".

^dModifica: aggiunta di informazioni.

ABX Pentra ALP CP

Precauzioni di carattere generale ^e

- Il reagente può essere utilizzato esclusivamente da esperti a fini diagnostici *in vitro*.
Per uso in laboratorio.
- Solo per l'uso previsto.
- Questo reagente è classificato come non pericoloso in conformità alla direttiva (CE) 1272/2008.
- Non ingerire. Evitare il contatto con la cute e con le membrane mucose.
- La reazione comporta la produzione di p-nitrofenolo, una sostanza velenosa se inalata, ingerita o assorbita attraverso la pelle. Se la miscela di reazione viene a contatto con la pelle o con le membrane mucose, lavare con abbondanti quantità di acqua.
- Rispettare le precauzioni per l'uso standard di laboratorio.
- le cassette di reagenti sono monouso e devono essere eliminate in conformità alle disposizioni locali.
- Consultare la scheda di sicurezza specifica del reagente.
- Non utilizzare il prodotto se vi sono segni evidenti di deterioramento biologico, chimico o fisico.
- Non utilizzare il prodotto in caso di mancato rispetto delle condizioni di conservazione raccomandate, inclusa la temperatura.
- L'operatore deve essere formato da un rappresentante HORIBA Medical prima di provare a utilizzare il dispositivo.
- L'utente è tenuto a verificare che il presente documento faccia riferimento al reagente utilizzato.
- Per l'assistenza tecnica, contattare il numero +33 (0)4 67 14 15 16.
- Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo dovrà essere segnalato al produttore e all'autorità competente dello stato in cui si trova l'operatore e/o il paziente.

Prestazioni con Pentra C400

Variabilità da un lotto all'altro ^f

Il recupero di campioni (siero e plasma) eseguito durante il rilascio QC di tre lotti consecutivi di reagente mostra che la variabilità tra i lotti rientra entro i limiti delle specifiche: < 10%.

Siero, plasma

I dati sulle prestazioni di seguito elencati sono rappresentativi delle prestazioni con i sistemi HORIBA Medical.

Numero di analisi: circa 125 test

Stabilità del reagente caricato

Utilizzare ogni giorno un reagente fresco. Dopo l'uso, eliminare il reagente residuo dal contenitore. Una volta aperta, la cassetta dei reagenti è stabile per 29 giorni se immediatamente chiusa.

Volume del campione: 4 µL/test

Limite di rilevabilità ^g

Il limite di rilevabilità viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (7) ed equivale a 13,48 U/L.

Limite di quantizzazione ^h

Il limite di quantizzazione viene determinato in base al protocollo CLSI (NCCLS), EP17-A2 (7) ed equivale a 14 U/L.

Accuratezza e precisione

Ripetibilità (precisione intra-serie)

Ripetibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo Valtec (8) con campioni testati 20 volte:

- 2 controlli
- 3 campioni (livelli bassi / medi / alti)

	Valore medio U/L	CV %
Campione di controllo 1	98	1,26
Campione di controllo 2	278	0,80
Campione 1	36	4,01
Campione 2	63	2,11
Campione 3	467	0,60

^eModifica: modifica delle precauzioni di carattere generale.

^fModifica: aggiunta di un capitolo.

^gModifica: modifica del limite di rilevamento.

^hModifica: aggiunta di dati.

ABX Pentra ALP CP

Riproducibilità (precisione complessiva)

Riproducibilità in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP5-A2 (9) con campioni analizzati in duplice test per 20 giorni (2 serie al giorno):

- 2 controlli
- 2 campioni (livelli bassi / alti)

	Valore medio U/L	CV %
Campione di controllo 1	95,93	2,8
Campione di controllo 2	270,10	2,5
Campione 1	31,91	6,0
Campione 2	473,69	2,1

Intervallo di misurazione ⁱ

L'analisi ha confermato un intervallo di misurazione compreso tra 14 U/L e 1825 U/L.

Con la post-diluizione automatica, l'intervallo di misurazione viene esteso fino a 7300 U/L.

La linearità del reagente è stata valutata fino a 1825 U/L secondo le raccomandazioni del protocollo CLSI (NCCLS), EP06-Ed2 (10).

Correlazione ^j

Campioni di pazienti: Siero

Numero di campioni paziente: 101

I campioni sono stati messi a confronto prendendo come riferimento un reagente disponibile in commercio in conformità alle indicazioni fornite nel protocollo CLSI (NCCLS), EP09c (11).

I valori presentano variazioni comprese tra 24 U/L e 1271 U/L.

Di seguito è riportata l'equazione per la linea allometrica ottenuta mediante la regressione di Passing-Bablok (12):

$$Y = 1,02 X - 1,157 \text{ (U/L)}$$

con coefficiente di correlazione $r^2 = 0,999$.

Interferenze ^k

Emoglobina: Nessuna influenza significativa fino a 59 $\mu\text{mol/L}$ (95,05 mg/dL).

Trigliceridi: Nessuna influenza significativa fino a una concentrazione di trigliceridi di 6,29 mmol/L (550,38 mg/dL).

Bilirubina totale: Nessuna influenza significativa fino a 470,0 $\mu\text{mol/L}$ (27,5 mg/dL).

Bilirubina diretta: Nessuna influenza significativa fino a 371 $\mu\text{mol/L}$ (21,7 mg/dL).

Young fornisce altri limiti sotto forma di elenco di variabili preanalitiche e farmaci noti che possono influenzare questa metodologia (13, 14).

Stabilità della calibrazione

Il reagente viene calibrato il giorno 0. Per controllare la stabilità della calibrazione, vengono analizzati 2 campioni di controllo.

La durata della stabilità della calibrazione è di 6 ore.

Nota: si consiglia di effettuare nuovamente la calibrazione quando si cambiano i lotti di reagente e quando i risultati dei controlli della qualità non rientrano nell'intervallo stabilito.

Bibliografia

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks Verlagsgesellschaft (1998): 36-46.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company (1999): 617-721.
3. Tietz NW, Rinker D, Shaw LM. IFCC method for alkaline phosphatase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 731-748.
4. Thomas L. Clinical Laboratory diagnostics. 1st ed. Frankfurt: THBooks verlagsgesellschaft (1998): 36-46.
5. Burtis CA, Ashwood ER. Eds. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB. Saunders Company (1999): 1829.
6. Soldin JS, Hicks JM. Pediatric reference ranges. Washington: AACC Press (1996): 5.
7. Evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. Approved Guideline, 2nd ed., CLSI (NCCLS) document EP17-A2 (2012) **32** (8).
8. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. Protocole de validation de techniques (document B). Ann. Biol. Clin. (1986) **44**: 686-745.
9. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Method. Approved Guideline, CLSI (NCCLS) document EP5-A2 (2004) **24** (25).
10. Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures. 2nd Edition, CLSI (NCCLS) guideline EP06-Ed2 (2020) **40** (16).

ⁱModifica: modifica dell'intervallo di misurazione.

^jModifica: modifica della correlazione.

^kModifica: modifica delle interferenze.

ABX Pentra ALP CP

11. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. Approved Guideline, 3rd ed., CLSI (NCCLS) document EP09c (2018) **38** (12).
12. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. (1983) **21**: 709-720.
13. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th Edition, Washington, DC, AACC Press (2000).
14. Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests. 2nd Edition, Washington, DC, AACC Press (1997) **3**: 120-132.