

FOSFATASI ALCALINA FL IFCC

AF F080 CH	4 x 20 ml
AF F245 CH	12 x 20 ml
AF F400 CH	8 x 50 ml
AF F600 CH	5 x 120 ml

USO

Reagente per la determinazione quantitativa in vitro della fosfatasi alcalina nei fluidi biologici.

SOMMARIO

La fosfatasi alcalina è presente in praticamente tutti i tessuti corporei. A livelli particolarmente elevati nell'epitelio intestinale, tubuli renali, ossa, fegato e placenta. Anche se la funzione metabolica precisa non è ancora ben compresa, l'enzima appare essere associato con il trasporto lipidico nell'intestino e con il processo di calcificazione ossea.

PRINCIPIO

L'enzima fosfatasi alcalina (EC 3.1.3.1., ortofosforico monoestere fosfoidrolasi) idrolizza il 4-NPP rilasciando 4-NP il cui tasso di formazione può essere misurato spettrofotometricamente a 405 nm per quantificare l'attività della ALP nel campione.

Il metodo è ottimizzato secondo IFCC.

COMPONENTI FORNITI

Solo per uso diagnostico in vitro.

I componenti del kit, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Conservare al riparo da luce diretta.

ALP IFCC R1	F080: 4 x 16 ml (liquido) capsula blu
	F245: 12 x 16 ml (liquido) capsula blu
	F400: 8 x 40 ml (liquido) capsula blu
	F600: 4 x 120 ml (liquido) capsula blu

ALP IFCC R2	F080: 1 x 16 ml (liquido) capsula rossa
	F245: 3 x 16 ml (liquido) capsula rossa
	F400: 2 x 40 ml (liquido) capsula rossa
	F600: 1 x 120 ml (liquido) capsula rossa

Composizione nel reattivo finale: tampone 2-amino-2-metil-1-propanolo 0.35 M pH 10.40 (30°C), magnesio acetato 2 mM, zinco solfato 1 mM, HEDTA 2 mM, 4-NPP 16 mM.

Conservare tutti i componenti a 2-8°C.

MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Normale strumentazione di laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

PREPARAZIONE DEL REATTIVO

Procedura starter campione:

Codice F080/F245: aggiungere 4 ml di reagente R2 ad un flacone di reagente R1.

Codice F400: aggiungere 10 ml di reagente R2 ad un flacone di reagente R1.

Codice F600: mescolare 1 parte di reagente R2 con 4 parti di reagente R1.

Stabilità del reagente preparato: preferibilmente entro 30 giorni a 2-8°C al riparo dalla luce.

Procedura starter reagente:

utilizzare i reagenti separati.

Stabilità: fino a scadenza in etichetta.

Stabilità dopo prima apertura: preferibilmente entro 60 gg.

PRECAUZIONI

ALP IFCC R1: Attenzione. Provoca grave irritazione oculare (H319). Provoca irritazione cutanea (H315). Indossare guanti protettivi. Proteggere gli occhi (P280). **IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE:** Lavare abbondantemente con acqua (P302+P352). **IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI:** sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare (P305+P351+P338). Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico (P337+P313).

ALP IFCC R2: Non è classificato come pericoloso.

CAMPIONE

Siero, plasma (solo con eparina).

I campioni tenuti a temperatura ambiente mostrano un leggero incremento nell'attività, che varia dallo 1% in 6 ore fino al 3-6% dopo 1-4 giorni. Anche i campioni refrigerati mostrano un incremento nell'attività. Nel congelamento l'attività viene depressa, ma riprende lentamente dopo scongelamento.

Un simile incremento nell'attività, ma significativamente maggiore, si verifica nella ricostituzione di sieri liofilizzati, quali sieri di controllo e calibratori. Nei materiali ricostituiti, l'incremento durante la conservazione a 4 o a 20°C è rispettivamente di circa il 10 ed il 30%. L'incremento di attività continua per diversi giorni, ma con un tasso inferiore.

La causa di questo fenomeno non è conosciuta, ma può essere attribuibile alla rinaturazione di una quota di enzima parzialmente denaturata o alla dissociazione, nel riscaldamento, di un complesso fosfato-lipoproteina od a un polimero dell'enzima formatosi durante la liofilizzazione.

PROCEDIMENTO (starter campione)

Lunghezza d'onda:	405 nm
Passo ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
pipettare in cuvetta il reattivo di lavoro:	1 ml
preincubare il reattivo a 37°C per 5 minuti.	
aggiungere il campione:	20 µl
Mescolare, dopo 1 minuto misurare l'assorbanza contro acqua, incubando a 37°C. Effettuare altre 3 letture a distanza di 60 secondi. Calcolare il $\Delta A/\text{min}$.	

PROCEDIMENTO (starter reagente)

Lunghezza d'onda:	405 nm
Passo ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
pipettare in cuvetta il reagente R1:	1 ml
aggiungere il campione:	25 µl
preincubare il reattivo a 37°C per 5 minuti.	
pipettare in cuvetta il reagente R2:	250 µl
Mescolare, dopo 1 minuto misurare l'assorbanza contro acqua, incubando a 37°C. Effettuare altre 3 letture a distanza di 60 secondi. Calcolare il $\Delta A/\text{min}$.	

CALCOLO DEI RISULTATI

Effettuare il calcolo in unità/litro moltiplicando il $\Delta A/\text{min}$ per il fattore come di seguito indicato

Attività in U/l: $\Delta A/\text{min} \times 2757$

Attività in $\mu\text{kat/l}$: $\text{U/l} \times 0.0167 = \mu\text{kat/l}$

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Uomini: 40 - 129 U/l (0.67 - 2.15 $\mu\text{kat/l}$)
Donne: 35 - 104 U/l (0.58 - 1.74 $\mu\text{kat/l}$)

CONTROLLO DI QUALITÀ - CALIBRAZIONE

E' consigliabile l'esecuzione di un controllo di qualità interno. Allo scopo sono disponibili a richiesta i seguenti sieri di controllo a base umana:

QUANTINORM CHEMA

con valori possibilmente negli intervalli di normalità,

QUANTIPATH CHEMA

con valori patologici.

Qualora il sistema analitico lo richiedesse, è disponibile un calibratore multiparametrico a base umana:

AUTOCAL H

Contattare il Servizio Clienti per ulteriori informazioni.

PRESTAZIONI DEL TEST

Linearità

il metodo è lineare fino a 3000 U/l.

Qualora il $\Delta A/\text{min}$ risultasse superiore a 0.500 si consiglia di diluire il campione 1+9 con soluzione fisiologica e ripetere il test, moltiplicando il risultato per 10.

Sensibilità/limite di rilevabilità

Il metodo è in grado di discriminare fino a 5.2 U/l.

Interferenze

non sono verificabili interferenze in presenza di:

emoglobina	≤ 400 mg/dl
bilirubina	≤ 40 mg/dl
lipidi	≤ 900 mg/dl

Precisione

nella serie (n=10)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
campione 1	84.40	2.41	2.86
campione 2	222.40	5.74	2.58

tra le serie (n=20)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
campione 1	86.66	2.66	3.07
campione 2	210.39	6.08	2.89

Confronto tra metodi

un confronto con un metodo commercialmente disponibile ha fornito i seguenti risultati in una comparazione su 150 campioni:

ALP Chema = x
ALP concorrente = y
n = 150

$$y = 1.03x - 2.57 \text{ U/l} \quad r^2 = 0.998$$

CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali.

P501: Smaltire il prodotto in conformità alla regolamentazione nazionale/internazionale.








BIBLIOGRAFIA

Clin. Chim. Acta, (1983) 339F - 367F
Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition, Burtis-Ashwood (1994).

PRODUTTORE

Chema Diagnostica
Via Campania 2/4
60030 Monsano (AN)
phone +39 0731 605064
fax +39 0731 605672
e-mail: mail@chema.com
website: http://www.chema.com

LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso