

FOSFATASI ALCALINA FL DGKC

AL F080 CH	4 x 20 ml
AL F245 CH	12 x 20 ml
AL F400 CH	8 x 50 ml
AL F600 CH	5 x 120 ml
AL 100F CH	5 x 200 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 DGKC.

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 DGKC 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
100F: 4 x 200 ml (liquido) capsula blu

ALP DGKC 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
100F: 1 x 200 ml (liquido) capsula rossa

Composizione nel reattivo finale: tampone DEA 1M pH 9.8, MgCl₂ 0.5 mM, 4-NPP 10 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:

Codici 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 F600/100F: mescolare 1 parte di reagente R2 con 4 parti di reagente R1.

Stabilità del reagente preparato: preferibilmente entro 60 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 DGKC R1: Pericolo. Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta (H373). Provoca gravi lesioni oculari. (H318). Provoca irritazione cutanea (H315). Indossare guanti protettivi. Proteggere gli occhi (P280). Non respirare i vapori (P260). 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). In caso di malessere, consultare un medico (P314).

ALP DGKC 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 ΔA/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 ΔA/min.	

CALCOLO DEI RISULTATI

Effettuare il calcolo in unità/litro moltiplicando il ΔA/min per il fattore come di seguito indicato

Attività in U/l: ΔA/min x 2757

Attività in µkat/l: U/l x 0.0167 = µkat/l

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Uomini: < 270 U/l (< 4.50 µkat/l)
Donne: < 240 U/l (< 4.00 µkat/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 ΔA/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 7 U/l.

Interferenze

non sono verificabili interferenze in presenza di:

emoglobina ≤ 400 mg/dl
bilirubina ≤ 27 mg/dl
lipidi ≤ 1000 mg/dl

Precisione

nella serie (n=10)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
campione 1	175.70	0.95	0.50
campione 2	426.70	2.41	0.60

tra le serie (n=20)	media (U/l)	SD (U/l)	CV%
campione 1	167.26	3.99	2.40
campione 2	408.28	8.61	2.10

Confronto tra metodi

un confronto con un metodo commercialmente disponibile ha fornito i seguenti risultati in una comparazione su 112 campioni:

ALP Chema = x
ALP concorrente = y
n = 112

$$y = 0.96x - 2.17 \text{ U/l} \quad r^2 = 0.999$$

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

J. Clin.Chem.Clin.Biochem 8 (1970) 658; 10 (1972) 182
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