

Kit per la determinazione della fosfatasi alcalina nel siero o plasma - Metodo cinetico ottimizzato DEA

PRINCIPIO

La fosfatasi alcalina (ALP) catalizza l'idrolisi, in ambiente alcalino, del p-nitrofenilfosfato in p-nitrofenolo e fosfato. L'aumento di estinzione è direttamente proporzionale all'attività della fosfatasi alcalina presente nel campione.

REATTIVI - Concentrazione iniziale

R1 Tampone dietanolamina pH 9.8 1.5 mol/l; magnesio cloruro 0.8 mmol/l; stabilizzanti
R2 p-Nitrofenilfosfato 10.0 mmol/l; stabilizzanti

CAMPIONI

- Siero o plasma anticoagulato con eparina.

Note

- Non utilizzare campioni emolizzati. Il prelievo deve essere effettuato di preferenza dopo 8 ore di digiuno. Gli anticoagulanti come l'EDTA, il citrato e l'ossalato non devono essere utilizzati poiché inibiscono l'attività dell'enzima.

- Nei campioni l'ALP è stabile fino a 7 giorni a 2-8°C.

VALORI DI RIFERIMENTO

Siero - plasma [U/l]	25°C	30°C	37°C
Bambini	110-720	145-950	180-1200
Adulti	60-170	80-220	100-290

I valori di riferimento sono da considerarsi indicativi in quanto ogni laboratorio dovrebbe ricercare quelli della popolazione su cui opera. I risultati del test dovrebbero essere interpretati unitamente alle informazioni derivanti dalle valutazioni cliniche del paziente.

PREPARAZIONE DEI REATTIVI

Sciogliere il contenuto del flacone **R2** con il contenuto del flacone **R1**.

Togliere i reattivi dal frigo solo il tempo necessario per il loro utilizzo e richiuderli subito dopo.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

- Conservare il kit a 2-8°C. Non congelare i reattivi.

- Stabilità del reattivo ricostituito: 21 giorni a 2-8°C.

NOTE

- Il kit con la presente metodica deve essere utilizzato in manuale. Per l'utilizzo in automatico consultare le applicazioni specifiche.

- Valutare attentamente i risultati se l'estinzione del reattivo di lavoro è > 0.600 a 405 nm.

- Evitare di esporre i reattivi alla luce diretta, contaminazione ed evaporazione.

- I volumi indicati nel procedimento possono essere variati proporzionalmente.

- In caso di reclamo o di richiesta del controllo di qualità del presente kit, indicare il numero di lotto riportato sulla confezione o, in alternativa, il numero di lotto dei singoli componenti.

MATERIALI AUSILIARI

Materiali necessari non contenuti nel kit: soluzioni diluenti, vetreria e monouso, sistemi di dosaggio e misurazione, calibratori per la taratura degli strumenti.

Calibratori consigliati:

REF 20102 Biocal H Human

CONTROLLO DI QUALITÀ

È necessario eseguire i controlli ad ogni utilizzo del kit e verificare che i valori ottenuti siano inclusi nell'intervallo di riferimento riportato nelle istruzioni d'uso.

Sieri consigliati:

REF 20350 Precise Norm

REF 20360 Precise Path

PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

Il prodotto non è classificato come sostanza pericolosa (DLg. N.285 art.28 Legge n.128 del 1998). La concentrazione totale dei componenti è inferiore ai limiti riportati dalle Direttive 67/548/CEE e 88/379/CEE e successive modifiche sulla classificazione, imballaggio ed etichettatura delle sostanze pericolose.

È consigliabile tuttavia maneggiare il prodotto con cautela secondo le norme di buona pratica di laboratorio.

SMALTIMENTO RIFIUTI

Il prodotto deve essere smaltito secondo le locali normative in materia di gestione dei rifiuti.

PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda λ : 405 (400-410) nm
Temperatura di lavoro 37°C (25 o 30°C)
Cammio ottico 1 cm
Tipo di reazione cinetica (in incremento)

Portare i reattivi a 15-25°C prima del loro utilizzo.

CAMPIONE	20 μ l
REATTIVO	1000 μ l

Agitare poi incubare per 1 min. a 37°C. Leggere l'estinzione del campione (EC) contro acqua distillata al tempo 0 e dopo 1, 2, 3 minuti. Calcolare la variazione media di estinzione per minuto ($\Delta E/\text{min}$).

CALCOLO con calibrazione

$$ALP [U/l] = \Delta E/\text{min campione} / \Delta E/\text{min calib} \times \text{conc calib}$$

CALCOLO con fattore (indicativo)

$$ALP [U/l] = \Delta E/\text{min} \times 2757$$

Il fattore e le prestazioni del reattivo sono riferite a 37°C e 405 nm.

PRESTAZIONI DEL REATTIVO

Interferenze

La bilirubina non interferisce con il test sino alla concentrazione di 40 mg/dl.

I trigliceridi non interferiscono sino alla concentrazione di 2000 mg/dl.

L'emoglobina non interferisce sino alla concentrazione di 150 mg/dl.

L'acido ascorbico non interferisce sino alla concentrazione di 30 mg/dl.

Linearità

La reazione è lineare sino alla concentrazione di 2000 U/l (corrispondente ad un $\Delta E/\text{min}$ di 0.725). Campioni superiori a 2000 U/l devono essere diluiti con soluzione fisiologica. Moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione.

Precisione "intra-Assay" (NELLA SERIE)

Determinata su 30 replicati per ciascun controllo (L-N-H) (Low-Normal-High). Risultati ottenuti:

MEDIA (U/l)	L = 88.79	N = 182.07	H = 602.46
D.S.	1.87	3.75	12.28
C.V.%	2.11	2.06	2.04

Precisione "inter-Assay" (FRA LE SERIE)

Determinata su 15 replicati per ciascun controllo (L-N-H) per 3 giorni. Risultati ottenuti:

MEDIA (U/l)	L = 88.47	N = 170.86	H = 584.85
D.S.	2.00	3.57	12.21
C.V.%	2.26	2.09	2.09

Sensibilità analitica

Soglia di sensibilità espressa dal metodo: 18 U/l.

Correlazione

Un metodo equivalente preso a riferimento, correlato su 21 campioni con il reattivo in esame, ha dato un fattore di correlazione $r = 0.99$

BIBLIOGRAFIA

Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC). Recommendation of the German Society of Clinical Chemistry. Standardization of methods for measurement of enzymatic activities in biological fluids. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 10, 182 (1972). Kubler W: Symp. D. Deutsch Ges. für Lab. Med., 8 (1973). Fischbach F, Zawta B: Klin. Lab., 38, 555 (1992). Szasz G. et al.: Z. Kindrheilk, 111, 233 (1971). Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SIMBOLOGIA



Consultare istruzioni per l'uso



Marchio CE (prodotto conforme ai requisiti della Dir. 98/79/CE)



Limiti temperatura di conservazione



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Fabbricante

Kit for measurement of alkaline phosphatase in serum or plasma Kinetic optimized DEA method

PRINCIPLE

Alkaline phosphatase (ALP) catalyzes the hydrolysis, in alkaline environment, of p-nitrophenylphosphate into p-nitrophenol and phosphate. The absorbance increasing is directly proportional to the alkaline phosphatase activity in the sample.

REAGENTS

- R1** Diethanolamine buffer pH 9.8 1.5 mol/l; magnesium chloride 0.8 mmol/l; stabilizers
R2 P-nitrophenylphosphate 10.0 mmol/l; stabilizers

SAMPLE

- Serum or heparinized plasma.

Note

- Do not use samples with haemolysis. The withdrawal must be made, preferably, after 8 hours of fasting. The anticoagulants as EDTA, citrate and oxalate must not be used because they inhibit the enzyme activity.
- The ALP is stable in the samples up to 7 days at 2-8°C.

REFERENCE VALUES

Serum - plasma [U/l]	25°C	30°C	37°C
Children	110-720	145-950	180-1200
Adults	60-170	80-220	100-290

References values are considered indicatives since each laboratory should establish references ranges for its own patient's population. The analytical results should be evaluated with other information coming from patient's clinical story.

PREPARATION OF REAGENTS

Dissolve the content of **R2** vial with the content of **R1** vial. Keep out the reagents from refrigerator only for the use and recap them immediately.

STORAGE AND STABILITY

- Store the kit at 2-8°C. Do not freeze the reagents.
- Reconstituted reagent stability: 21 days at 2-8°C.

NOTE

- The kit, according to this method, must be used in manual procedures. About automatic using follow specific applications.
- Evaluate carefully the results if working reagent absorbance is > 0.600 at 405 nm.
- Avoid direct light, contamination and evaporation.
- The volumes in the procedure can be changed proportionally.
- In case of complaint or quality control request, refer to the lot number on the package or the lot number on the singles vials.

AUXILIARY EQUIPMENT

Materials not included in the kit: diluent solutions, laboratory glassware, disposable tips, photometers and calibrators.

Suggested calibrator:

REF 20102 Biocal H Human

QUALITY CONTROLS

It's necessary, every time the kit is used, to make the quality controls and to check that values obtained are within the acceptance range provided in the insert.

Suggested serum:

REF 20350 Precise Norm **REF** 20360 Precise Path

PRECAUTION IN USE

The product is not classified as dangerous (DLg. N. 285 art. 28 l. n. 128/1998). The total concentration of components is lower than the limits reported by 67/548 and 88/379 CE Regulations (and following modifications) about classification, packaging and labelling of dangerous substances. However the reagent should be handled with caution, according to good laboratory practice.

WASTE MANAGEMENT

Please refer to the local legal requirements.

PROCEDURE

Wavelength	λ: 405 (400-410) nm
Working temperature	37°C (25° or 30°C)
Optical path	1 cm
Reaction	kinetic (increasing)

Bring the reagents at 15-25°C before using them.

SAMPLE	20 µl
REAGENT	1000 µl
Mix, then incubate for 1' a 37°C. Measure the absorbance of sample (EC) against distilled water every minute during 3 minutes. Calculate the average absorbance difference per minute (ΔE/min).	

CALCULATION with calibration

$$ALP [U/l] = \Delta E/min \text{ sample} / \Delta E/min \text{ calib} \times \text{conc calib}$$

CALCULATION with factor (indicative)

$$ALP [U/l] = \Delta E/min \times 2757$$

The factor and the reagent performances are related to 37°C and 405 nm.

ANALYTICAL PERFORMANCES

Interferences

Bilirubin does not interfere up to concentration of 40 mg/dl.
 Triglycerides do not interfere up to concentration of 2000 mg/dl.
 Hemoglobin does not interfere up to concentration of 150 mg/dl.
 Ascorbate acid does not interfere up to concentration of 30 mg/dl.

Linearity

Reaction is linear up to a concentration of 2000 U/l (corresponding to ΔE/min of 0.725). Samples with values exceeding 2000 U/l must be diluted with saline solution. Multiply, then, the result for diluting factor.

"Intra-Assay" precision (within-Run)

Determined on 30 samples for each control (L-N-H) (Low-Normal-High).

Results:

MEAN	(U/l)	L = 88.79	N = 182.07	H = 602.46
S.D.		1.87	3.75	12.28
C.V.%		2.11	2.06	2.04

"Inter-Assay" precision (between-run)

Determined on 15 samples for each control (L-N-H) for 3 days.

Results:

MEAN	(U/l)	L = 88.47	N = 170.86	H = 584.85
S.D.		2.00	3.57	12.21
C.V.%		2.26	2.09	2.09

Analytical sensitivity

The test sensitivity in terms of detection limit is 18 U/l.

Correlation

A study based comparing this method with a similar method on 21 samples has given a correlating factor **r = 0.99**

BIBLIOGRAPHY

Deutsche Gesellschaft für klinische Chemie (DGKC). Recommendation of the German Society of Clinical Chemistry. Standardization of methods for measurement of enzymatic activities in biological fluids. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 10, 182 (1972). Kubler W: Symp. D. Deutsch Ges. für Lab. Med., 8 (1973). Fischbach F, Zawta B: Klin. Lab., 38, 555 (1992). Szasz G. et al.: Z. Kindrheilk, 111, 233 (1971). Kaplan LA, Pesce AJ: "Clinical Chemistry", Mosby Ed. (1996).

SYMBOLS



Read instruction for use



CE mark (requirement of 98/79 regulation)



Storing temperature limits



In vitro medical device

