FOSFATASI ALCALINA DEA LIQUIDA

Ref. PDI 104437 **Conf. 250 ml**

IVD

INDICAZIONI

La fosfatasi alcalina (ALP), enzima idrolitico che agisce in modo ottimale a pH alcalino, è presente nel sangue in molte forme distinte che si originano in prevalenza nelle ossa e nel fegato, ma anche nei reni, placenta, intestino, testicoli, timo, polmoni e tumori. Aumenti fisiologici si riscontrano durante la crescita ossea nei bambini ed in gravidanza, mentre aumenti patologici sono associati a malattie epatobiliari e delle ossa. Nelle malattie epatobiliari possono essere indice di ostruzione dei dotti biliari, come nella colestasi causata da calcoli biliari, tumori o infiammazione. Attività elevate si sono osservate anche nelle epatiti infettive. Nelle malattie ossee elevate attività di ALP sono dovute ad aumentata attività osteoblastica, come nel morbo di Paget, nell'osteomalachia (rachitismo), nelle metastasi ossee e nell'iperparatiroidismo.

PRINCIPIO

Metodo ottimizzato cinetico secondo le raccomandazioni DGKC .
La fosfatasi alcalina catalizza l'idrolisi, in ambiente alcalino, del p-nitrofenilfosfato in p- nitrofenolo e fosfato. Misurando l'aumento di assorbanza nell'unità di tempo a 405 nm, si calcola l'attività della fosfatasi alcalina nel campione esaminato.

REATTIVI

Per uso diagnostico in vitro.
I reattivi conservati a 2-8°C, sono stabili fino alla scadenza indicata sulla confezione.
Componenti del kit:

1)Reagente 1	**2x100 ml**	**Ref. PDI 1044371**
2)Reagente 2	**1x50 ml**	**Ref. PDI 1044372**

Concentrazione della soluzione di lavoro:

Tampone dietanolamina	1 mol/l pH 10.0
magnesio cloruro	0. 5 mmol/l,
p- nitrofenilfosfato	<10 mmol/l.

CAMPIONE

Siero o plasma (con Eparina) non emolizzati.
Il campione può essere conservato circa una settimana a 2-8°C.

METODICA

Lunghezza d'onda:	405 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Reazione:	cinetica
Bianco:	contro acqua

PROCEDIMENTO

Procedura Monoreagente: Mescolare un volume di Reagente 2 con 4 volumi di Reagente 1.Agitare dolcemente.
Stabilità: circa 4 settimane a 2-8°C e 5 giorni a temperatura ambiente al riparo dalla luce diretta.
Pipettare in una cuvetta termostatata:

Soluzione lavoro	250 µl
Incubare 1 min. alla temperatura prescelta	
Campione	5 µl
Mescolare con cura, leggere a 405 nm l'assorbanza iniziale dopo 50 secondi e ripetere la lettura ad intervalli di un minuto per tre minuti. Calcolare la media dei D A/min trovati.	

Procedura Bireagente:
Pipettare in una cuvetta termostatata:

Reagente R1	200 µl
Reagente R2	50 µl
Incubare 1 min. alla temperatura prescelta	
Campione	5 µl
Mescolare con cura, leggere a 405 nm l'assorbanza iniziale dopo 50 secondi e ripetere la lettura ad intervalli di un minuto per tre minuti. Calcolare la media dei D A/min trovati.	

CALCOLO

Moltiplicare il DA/min trovato con il fattore F valido per le condizioni operative adottate (lunghezza d'onda, volume di campione e volume finale di reazione):
D A/min x F = attività Fosfatasi Alcalina in U/L
F a 405 nm e 37°C = 3397 per procedura bireagente

ATTENZIONE!

Ogni laboratorio deve determinare il proprio fattore F in funzione delle proprie condizioni operative e della strumentazione adottata.

VALORI NORMALI (fino a U/L)

adulti	donne 240
	uomini 270
bambini	1 giorno 600
	2- 5 giorni 554
	6giorni- 6 mesi 1076
	7 mesi- 1anno 1100
	1- 3 anni 674
	4- 6 anni 645
	7- 12 anni 720
13- 17 anni	femmine 448
13- 17 anni	maschi 935

CALIBRATORI E/O CONTROLLI

Qualora si voglia lavorare contro calibratore, utilizzare il calibratore PKL.
Per il controllo di qualità interno usare i Sieri di Controllo Umani Normali PKL od i Sieri di Controllo Umani

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

Patologici PKL. Si consiglia di analizzare due livelli dei controlli almeno una volta al giorno. I valori ottenuti devono essere nel range specificato. Se i valori dovessero essere fuori da questo range e se un eventuale errore nell'esecuzione fosse escluso dalla ripetizione del test, è opportuno applicare i seguenti punti:
1.Controllare la programmazione dello strumento e la sorgente di luce.
2.Assicurarsi della pulizia di tutti gli strumenti usati.
3.Controllare l'acqua; eventuali contaminazioni (ad es. batterica) possono contribuire a dare risultati imprecisi.
4.Controllare la temperatura di reazione.
5.Controllare la data di scadenza del kit e del suo contenuto.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI
Pipette a vario volume, spettrofotometro o fotometro da Laboratorio.

PRECAUZIONI
Il reagente contiene sodio azide come conservante (0.1 %). Non ingerire! Evitare il contatto con la pelle e le mucose. In caso di spargimento accidentale diluire con acqua.
Tali prodotti sono solo per uso professionale e vanno utilizzati da personale qualificato.

NOTE
Interferenze: nessuna influenza da ittero (bilirubina <30 mg/dl), emolisi (Hb < 0.2 g/dl), acido ascorbico (30 mg/dl), nonché da lipemia (trigliceridi <1000 mg/dl). Anticoagulanti come l'EDTA, ossalati o citrati non devono essere usati.

LINEARITA'
Lineare nell'intervallo 10-700 U/L. Per concentrazioni superiori a 700 U/L, ripetere la determinazione su campione diluito 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 10.

SPECIFICITA'
Il reattivo determina unicamente l'attività Fosfatasi Alcalina nel siero.

SENSIBILITA'
L'attività minima rilevabile è di 6 U/L con un Analizzatore Hitachi 911.

CORRELAZIONE
Il confronto tra questo test (y) ed uno dei metodi più diffusi in commercio (x), ha fornito i seguenti risultati:
N = 40 r = 0.9952 y = 1.0211x + 2.0800

PRECISIONE

Siero Di Controllo	Lotto	Valore Ottenuto	Valore medio	Range	Recovery %
PKL N	186 UN	331	324	256-392	97.9
PKL P	106 UE	558	563	445-681	100.9

RIPETIBILITA' e RIPRODUCIBILITA'
La ripetibilità viene espressa come coefficiente di variazione nella serie.
La riproducibilità viene espressa come coefficiente di variazione tra le serie.

CV (%)	Livello I 177 U/l	Livello II 333 U/l	Livello III 871 U/l
Nella serie	2,05	1,49	0,79
Tra le serie	3,58	2,06	1,44

TRATTAMENTO DEI RIFIUTI
Riferirsi ai regolamenti ufficiali.

CLASSIFICAZIONE EDMA
Nome Fosfatasi Alcalina n. 11.01.01.05.00

BIBLIOGRAFIA
James E. Davis, Method for stabilizing an alkanol amine buffer used in optical determinations of enzyme activity. (1994)
Siedel, Dr. Joachim, Schellong, Lieselotte, Staepels, Johnny, Herrmann, Dr. Uwe, Town, Dr. Michael-harold Process and reagent for the determination of iron. (1988)
Ferrero C, Modenese A, Bonini PA, Ceriotti F, Carobene A, Franzin M, G. Guder W, Hofmann W, Puukka M, Laitinem H,
Makarovsy V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484.
Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9
Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994).
Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metez- France.
Pasquinelli F.. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio - 4 – Profili Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990).
Shauna C., Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).
E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio– Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006).
Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996).

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

ALKALINE PHOSPHATASE DEA LIQUID

Ref. PDI 104437 **Conf. 250 ml**

IVD

INDICATION

The alkaline phosphatase (ALP), hydrolytic enzyme that acts optimally at alkaline pH, is present in blood in many distinct forms that originate mainly in the bones and liver, but also in kidney, placenta, intestine, testis, thymus, lungs and tumors. Increases physiological encountered during bone growth in children and in pregnant women, and increases disease are associated with hepatobiliary disease and bone. In hepatobiliary disease may indicate bile duct obstruction, as in cholestasis caused by gallstones, tumors or inflammation. High activities were also observed in infectious hepatitis. Bone disease in high ALP activity are due to increased osteoblast activity, such as Paget's disease, in osteomalachia (rickets), bone metastases and hyperparathyroidism.

PRINCIPLE

Kinetic method optimized according to the recommendations DGKC.

Alkaline phosphatase catalyzes the hydrolysis in alkaline environment, of p-nitrophenylphosphate to p-nitrophenol and phosphate. Measuring the increase in absorbance at 405 nm per unit of time, is calculated by the activity of alkaline phosphatase in the sample examined.

REAGENTS

For in vitro diagnostic use.

The reagents, stored at 2-8°C, are stable until the expiration data printed in the label.

Kit Components:

1)Reagent 1	**2x100 ml**	**Ref. PDI 1044371**
2)Reagent 2	**1x50 ml**	**Ref. PDI 1044372**

Working solution concentration:

Diethanolamine Buffer	1 mol/l pH 10.0
magnesium chloride	0. 5 mmol/l,
p-nitrophenylphosphate	<10 mmol/l.

SAMPLE

Serum or plasma (with heparin) not hemolyzed.

The sample can be stored at 2-8°C for 1 week.

METHOD

Wavelength:	405 nm
Optical path:	1 cm
Temperature:	37°C
Reaction:	kinetic
Blank:	against water

ANALYTICAL PROCEDURE

Monoreagent Procedure: mix 1 volume of Reagent 2 with 4 volumes of Reagent 1. Shake gently.

Stability: about 4 weeks at 2-8°C and 5 days at room temperature, away from direct light.

Pipetting in thermostated cuvetta:

working solution	250 µl
Incubate 1 min. at the selected temperature	
Sample	5 µl
Mix, read at 405 nm the initial wavelength and after 50 seconds and repeat reading at intervals of one minute to three minutes. Calculate the mean of D A / min were found.	

Bireagent Procedure:

Pipettare in thermostated cuvetta:

Reagent R1	200 µl
Reagent R2	50 µl
Incubate 1 min. at the selected temperature	
Sample	5 µl
Mix, read at 405 nm the initial wavelength and after 50 seconds reading at intervals of one minute to three minutes. Calculate the mean of D A / min were found.	

CALCULATION

Multiply the DA/min found with the F factor valid for the operating conditions adopted (wavelength, sample volume and final reaction volume):

D A/min x F = Phosphatase Alkaline activity in U/L

F a 405 nm e 37°C = 3397 for bireagent procedure

ATTENTION!

Each laboratory should determine its own factor F as a function of its operating conditions and instrumentation adopted.

STANDARD VALUE (U/L)

Adults women 240
man 270

Childrens 1 day 600
2- 5 days 554
6 days- 6 months 1076
7 months – 1 year 1100
1- 3 years 674
4- 6 years 645
7- 12 years 720

13- 17 years women 448

13- 17 years man 935

CALIBRATORS AND/OR CONTROLS

If you want to work against calibrator, use PKL calibrator. For internal quality control using PKL Normal and Pathological Human Control Serum. It is recommended to analyze two levels of checks at least once a day. The resulting values must be within the specified range.

PKL POKLER ITALIA

PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it

If the values should be outside this range and if any error in question was excluded from retesting, you should apply the following points:
1.Check the programming of the instrument and the light source.
2.Check cleanliness of all equipment in use.
3.Check the water contamination (eg. Bacterial) may contribute to inaccurate results.
4.Check the reaction temperature.
5.Check the expiry date of the kit and its contents.

ANCILARY EQUIPMENT BUT NOT REQUIRED
Various volume pipettes, spectrophotometer or photometer for Laboratory.

PRECAUTIONS
The reagent contains sodium azide as preservative (0.1%).
Do not swallow! Avoid contact with skin and mucous membranes. In case of accidental spillage dilute with water.
These products are for professional use only and must be used by qualified personnel.

NOTE
Interferences: not affected by icterus (bilirubin <30 mg/dL), hemolysis (Hb <0.2 g/dl), ascorbic acid (30 mg/dl), and by lipemia (triglycerides <1000 mg/dl). Anticoagulants such as EDTA, oxalates or citrates must not be used.

LINEARITY
Linear in the range 10-700 U/L. For concentration higher than 700 U/L, repeat the determination of sample diluted 1:10 with saline and multiply the result by 10.

SPECIFICITY
The reagent determines only the alkaline phosphatase activity in serum.

SENSIBILITY
The minimum detectable activity is 6 U/L with a Hitachi 911 Analyzer.

CORRELATION
The comparison between this test (y) and one of the most popular methods in commerce (x), has provided the following results:
N = 40 r = 0.9952 y = 1.0211x + 2.0800

PRECISION

Control Serum	Lot	Obtained Value	Average	Range	Recovery %
PKL N	186 UN	331	324	256-392	97.9
PKL P	106 UE	558	563	445-681	100.9

REPEATIBILITY and REPRODUCIBILITY
The repeatability is expressed as a coefficient of variation in the series.
The reproducibility is expressed as coefficient of variation between sets.

CV (%)	Level I 177 U/l	Level II 333 U/l	Level III 871 U/l
in the series	2,05	1,49	0,79
Between sets	3,58	2,06	1,44

WASTE MANAGEMENT
Refer to official regulations

CLASSIFICATION EDMA
Name Phosphatase Alkaline n. 11.01.01.05.00

BIBLIOGRAPHY
James E. Davis, Method for stabilizing an alkanol amine buffer used in optical determinations of enzyme activity. (1994)
Siedel, Dr. Joachim, Schellong, Lieselotte, Staepels, Johnny, Herrmann, Dr. Uwe, Town, Dr. Michael-harold Process and reagent for the determination of iron. (1988)
Ferrero C, Modenese A, Bonini PA, Ceriotti F, Carobene A, Franzin M, G. Guder W, Hofmann W, Puukka M, Laitinem H,
Makarovsy V and Gaidukova N. Multicentre Evaluation of KONE Optima Analysis System. Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 475-484.
Bablok W, Passing H. Application of statistical procedures in analytical instrument testing. J Autom Chem 1985; 7:74-9
Martin H. Kroll, Ronald J. Elin. Interference with Clinical Laboratory Analyses. Clin. Chem. 40/11 (1994).
Philippe Marquis. Comparison of analytical methods in clinical chemistry. Service de biochimie Centre Hospitalier, Metez- France.
Pasquinelli F.. Porta F. Diagnostica e Tecniche di Laboratorio - 4 – Profili Diagnostici e nuove metodiche analitiche. Rosini editrice srl Firenze (1990).
Shauna C., Anderson & Susan Cockayne .Clinical Chemistry – Concepts & Applications (2003).
E. Villers, L. Blackwood. Gli esami di laboratorio– Indicazioni, Esecuzione, Interpretazione. (2006).
Valente D., Preucipe L., Pozzoli R., Chiodo F., LE ANALISI CLINICHE (1996).

Ver. 002 del 06.05.2010

PKL POKLER ITALIA
PARAMEDICAL s.r.l. – Via Antonio Amato 24/26 – (Z.I.) 84131 Salerno
Tel. +39 089.385027 - +39 089.385093 - Fax +39 089.3854479 - www.paramedical.it - www.pokler.it - email:pokler@tin.it