

REF	CONTENT	Analizzatori su cui il cobas c pack può essere impiegato
03333752 190	Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2, ALP2S (200 test)	N. d'ident. 07 6761 1 Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
03333701 190	Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2, ALP2L (400 test)	N. d'ident. 07 6760 3 Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Codice 401
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, per gli USA)	Codice 401
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Codice 300
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Codice 300
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Codice 301
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, per gli USA)	Codice 301
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Codice 391
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Codice 391
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, per gli USA)	Codice 391
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Codice 392
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Codice 392
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, per gli USA)	Codice 392
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	N. d'ident. 07 6869 3

Italiano

Informazioni relative al sistema

Per gli analizzatori **cobas c** 311/501:

ALP2S: ACN 158

ALP2L: ACN 683

Per l'analizzatore **cobas c** 502:

ALP2S: ACN 8158

ALP2L: ACN 8683

Finalità d'uso

Test *in vitro* per la determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina nel siero e nel plasma umani, impiegando sistemi Roche/Hitachi **cobas c**.

Sommario^{1,2,3,4,5,6}

La fosfatasi alcalina nel siero è composta da quattro genotipi strutturali: il tipo fegato-ossa-reni, il tipo intestinale, il tipo placentare e la variante derivante dalle cellule germinali. Essa è presente in osteoblasti, epatociti e leucociti, nei reni, nella milza, nella placenta, nella prostata e nell'intestino tenue. Il tipo fegato-ossa-reni è particolarmente importante.

Un aumento dell'attività della fosfatasi alcalina si riscontra nel caso di tutte le forme di colestasi, in particolare dell'ittero ostruttivo. Essa si presenta elevata anche nelle malattie del sistema scheletrico, quali il morbo di Paget, l'iperparatiroidismo, il rachitismo e l'osteomalacia, nonché nelle fratture e nei tumori maligni. L'aumento considerevole dell'attività della fosfatasi alcalina, riscontrato a volte nei bambini e nei giovani, è causato da un incremento dell'attività osteoblastica in seguito ad una crescita ossea accelerata.

Questo metodo di test è stato descritto per la prima volta da King e Armstrong, modificato poi da Ohmori, Bessey, Lowry e Brock, e migliorato infine da Hausamen et al. Nel 2011, l'*International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) Scientific Division, Committee on Reference Systems of Enzymes (C-RSE)* ha raccomandato una procedura di riferimento per la determinazione della fosfatasi alcalina, impiegando una concentrazione di substrato ottimizzata ed utilizzando come tampone 2-amino-2-metil-1-propanolo con l'aggiunta dei cationi magnesio e zinco a 37 °C. Il presente metodo è conforme alle raccomandazioni dell'IFCC, ma è stato ottimizzato in termini di performance e stabilità.

Principio del test⁶

Test colorimetrico conforme ad un metodo standardizzato.

In presenza degli ioni di magnesio e di zinco, il p-nitrofenil fosfato viene dissociato dalle fosfatasi, formando fosfato e p-nitrofenolo.



Il p-nitrofenolo rilasciato è direttamente proporzionale all'attività catalitica dell'ALP. Viene determinato misurando l'aumento dell'assorbanza.

Reattivi – soluzioni pronte all'uso

R1 2-Amino-2-metil-1-propanolo: 1.724 mol/L, pH 10.44 (30 °C); acetato di magnesio: 3.83 mmol/L; solfato di zinco: 0.766 mmol/L; acido N-(2-idrossietil)-etilenediamina triacetico: 3.83 mmol/L

R2 p-Nitrofenil fosfato: 132.8 mmol/L, pH 8.50 (25 °C); conservanti

R1 si trova nella posizione B e R2 nella posizione C.

Precauzioni e avvertenze

Per uso diagnostico *in vitro*.

Osservare le precauzioni normalmente adottate durante la manipolazione dei reagenti di laboratorio.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire secondo le direttive locali.

Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta per gli utilizzatori professionali.

Per gli USA: attenzione: secondo la legge federale, la vendita di questo prodotto deve avvenire solo dietro richiesta di un medico.

Questa confezione contiene componenti classificati, secondo il Regolamento (CE) N. 1272/2008, come segue:



Avvertenza

H315 Provoca irritazione cutanea.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

Prevenzione:

P264 Lavare accuratamente la pelle dopo l'uso.

P280 Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.

Reazione:

P302 + P352 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.

P332 + P313 In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.

P337 + P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

P362 + P364 Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

L'etichettatura relativa alla sicurezza del prodotto è conforme al regolamento GHS UE.

Contatto telefonico: per tutti i paesi: +49-621-7590;
per gli USA: 1-800-428-2336

Utilizzo dei reattivi

Pronti all'uso.

Conservazione e stabilità**ALP2S, ALP2L**

Stabilità a 2-8 °C: Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore: 8 settimane

Diluent NaCl 9 %

Stabilità a 2-8 °C: Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore portareagenti **cobas c** pack.

In uso e refrigerato a bordo dell'analizzatore: 12 settimane

Prelievo e preparazione dei campioni

Per il prelievo e la preparazione dei campioni impiegare solo provette o contenitori di raccolta adatti.

Solo i tipi di campione elencati di seguito sono stati testati e risultano accettabili.

Siero.

Plasma: plasma con litio eparina.

I tipi di campione elencati sono stati testati impiegando una selezione di provette per il prelievo di campioni disponibili in commercio al momento dell'analisi; non sono, quindi, state testate tutte le provette disponibili di tutte le case produttrici. Alcuni sistemi per il prelievo di campioni di vari produttori possono contenere diversi materiali e in alcuni casi possono interferire sui risultati del test. Quando si trattano i campioni in provette primarie (sistemi per il prelievo di campioni), seguire le istruzioni del produttore delle provette.

I campioni contenenti precipitati devono essere centrifugati prima dell'esecuzione del test.

Per informazioni dettagliate relative alle possibili interferenze dai campioni, consultare la sezione "Limiti del metodo – interferenze".

Le indicazioni relative alla stabilità dei campioni sono state stabilite in base ai dati ottenuti in studi eseguiti dal produttore o in base alla letteratura di riferimento e solo per le temperature / gli intervalli di tempo riportati nella metodica. È responsabilità del laboratorio individuale utilizzare tutti i riferimenti disponibili e/o i propri studi effettuati per determinare i criteri specifici relativi alla stabilità validi per il proprio laboratorio.

Stabilità:⁷ 7 giorni a 20-25 °C

7 giorni a 4-8 °C

2 mesi a -20 °C

Materiali a disposizione

Per i reattivi, vedere la sezione "Reattivi – soluzioni pronte all'uso".

Materiali necessari (ma non forniti)

- Vedere la sezione "Informazioni per ordini".
- Normale attrezzatura da laboratorio

Esecuzione

Per una performance ottimale del test, attenersi alle indicazioni riportate nel presente documento per l'analizzatore in questione. Per le istruzioni specifiche dell'analizzatore relative all'esecuzione del test, consultare il manuale d'uso dello strumento.

Roche non risponde delle performance delle applicazioni che non sono state validate dalla stessa Roche – tali performance devono quindi essere definite dall'utilizzatore.

Applicazioni per il siero ed il plasma**Definizione del test per l'analizzatore cobas c 311**

Tipo di misura	Cinetica		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 13-31		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	480/450 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	U/L (µkat/L)		
Volumi dei reagenti		Diluyente (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL	
R2	17 µL	21 µL	
Volumi dei campioni	Campione	Diluizione del campione	
		Campione	Diluyente (NaCl)
Normale	2.8 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2.8 µL	20 µL	80 µL
Concentrato	2.8 µL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 501

Tipo di misura	Cinetica		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 19-48		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	480/450 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	U/L (µkat/L)		
Volumi dei reagenti		Diluyente (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL	
R2	17 µL	21 µL	
Volumi dei campioni	Campione	Diluizione del campione	
		Campione	Diluyente (NaCl)
Normale	2.8 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2.8 µL	20 µL	80 µL
Concentrato	2.8 µL	–	–

Definizione del test per l'analizzatore cobas c 502

Tipo di misura	Cinetica		
Tempo di reazione / punti di misura	10 / 19-48		
Lunghezze d'onda (sec./princ.)	480/450 nm		
Andamento della reazione	Crescente		
Unità di misura	U/L (µkat/L)		

Volumi dei reagenti		Diluyente (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL	
R2	17 µL	21 µL	
Volumi dei campioni		Diluizione del campione	
	Campione	Campione	Diluyente (NaCl)
Normale	2.8 µL	–	–
Ridotto (Diluito)	2.8 µL	20 µL	80 µL
Concentrato	5.6 µL	–	–
Calibrazione			
Calibratori	S1: H ₂ O		
	S2: C.f.a.s.		
Tipo di calibrazione	Lineare		
Frequenza di calibrazione	Calibrazione a 2 punti		
	• a cambio di lotto del reattivo • se richiesto dai procedimenti del controllo di qualità		

L'intervallo di calibrazione può essere esteso in base a valori accettabili della verifica di calibrazione da parte del laboratorio.

Tracciabilità: questo metodo è stato standardizzato contro la procedura dell'IFCC (2011).⁶

Controllo di qualità

Per il controllo di qualità, impiegare i materiali di controllo indicati nella sezione "Informazioni per ordini".

In aggiunta, è possibile utilizzare altro materiale di controllo appropriato.

Gli intervalli ed i limiti del controllo dovranno essere conformi alle esigenze individuali di ogni laboratorio. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti definiti. Ogni laboratorio deve definire delle misure correttive da attuare nel caso che alcuni valori siano al di fuori dei limiti definiti.

Per il controllo di qualità, attenersi alle normative vigenti e alle linee guida locali.

Calcolo

I sistemi Roche/Hitachi **cobas c** effettuano il calcolo automatico dell'attività dell'analita di ciascun campione.

Fattore di conversione: U/L x 0.0167 = µkat/L

Limiti del metodo – interferenze

Criterio di valutazione: recupero entro ±10 % del valore iniziale ad un'attività della fosfatasi alcalina di 100 U/L (1.67 µkat/L).

Ittero:⁸ nessuna interferenza significativa fino ad un indice I di 60 per la bilirubina coniugata e non coniugata (concentrazione di bilirubina coniugata e non coniugata: ca. 1026 µmol/L oppure 60 mg/dL).

Emolisi:⁸ nessuna interferenza significativa fino ad un indice H di 200 (concentrazione di emoglobina: ca. 124 µmol/L oppure 200 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):⁸ nessuna interferenza significativa fino ad un indice L di 2000. Non esiste una buona correlazione tra l'indice L (corrisponde alla torbidità) e la concentrazione di trigliceridi.

Farmaci: non si è osservata alcuna interferenza a concentrazioni terapeutiche impiegando le più comuni famiglie di farmaci.^{9,10}

In casi molto rari, la gammopatia, particolarmente di tipo IgM (macroglobulinemia di Waldenström), può causare risultati inaffidabili.¹¹

Ai fini diagnostici, i risultati devono sempre essere valutati congiuntamente con la storia clinica del paziente, con gli esami clinici e con altre evidenze cliniche.

AZIONI RICHIESTE

Programmazione extra lavaggi: è assolutamente necessario effettuare specifiche fasi di lavaggio se certe combinazioni di test vengono eseguite insieme sui sistemi Roche/Hitachi **cobas c**. La versione più recente dell'elenco dei possibili carry-over si trova allegata alle metodiche NaOHD - SMS - SmpCln1+2 - SCCS. Per ulteriori istruzioni, consultare il manuale d'uso.

Analizzatore **cobas c 502**: tutte le programmazioni di extra lavaggi richieste per evitare possibili carry-over sono disponibili tramite **cobas link**; in determinati casi è comunque necessario effettuare inserimenti manuali.

È necessario implementare la procedura di extralavaggio (qualora richiesta) prima di riportare i risultati di questo test.

Limiti ed intervalli

Intervallo di misura

5-1200 U/L (0.084-20.0 µkat/L)

Determinare i campioni con attività più alte mediante la funzione rerun. La diluizione dei campioni mediante la funzione rerun avviene nel rapporto 1:5. I risultati ottenuti con i campioni diluiti mediante la funzione rerun vengono automaticamente moltiplicati per il fattore 5.

Limiti inferiori di misura

Limite di sensibilità inferiore del test

5 U/L (0.084 µkat/L)

Il limite di sensibilità inferiore rappresenta la minima concentrazione misurabile dell'analita che può essere distinta dallo zero. Viene calcolato come il valore che si trova 3 deviazioni standard al di sopra dello standard più basso (standard 1 + 3 DS, ripetibilità, n = 21).

Valori di riferimento

(misurati a 37 °C)

Adulti¹²

Uomini (n = 221)	40-129 U/L	(0.67-2.15 µkat/L)
Donne (n = 229)	35-104 U/L	(0.58-1.74 µkat/L)

Bambini¹³

Maschi		
Età		
0-14 giorni	83-248 U/L	(1.39-4.14 µkat/L)
15 giorni-<1 anno	122-469 U/L	(2.04-7.83 µkat/L)
1-<10 anni	142-335 U/L	(2.37-5.59 µkat/L)
10-<13 anni	129-417 U/L	(2.15-6.96 µkat/L)
13-<15 anni	116-468 U/L	(1.94-7.82 µkat/L)
15-<17 anni	82-331 U/L	(1.37-5.53 µkat/L)
17-<19 anni	55-149 U/L	(0.92-2.49 µkat/L)
Femmine		
Età		
0-14 giorni	83-248 U/L	(1.39-4.14 µkat/L)
15 giorni-<1 anno	122-469 U/L	(2.04-7.83 µkat/L)
1-<10 anni	142-335 U/L	(2.37-5.59 µkat/L)
10-<13 anni	129-417 U/L	(2.15-6.96 µkat/L)
13-<15 anni	57-254 U/L	(0.95-4.24 µkat/L)
15-<17 anni	50-117 U/L	(0.84-1.95 µkat/L)
17-<19 anni	45-87 U/L	(0.75-1.45 µkat/L)

Femmine

Età

0-14 giorni	83-248 U/L	(1.39-4.14 µkat/L)
15 giorni-<1 anno	122-469 U/L	(2.04-7.83 µkat/L)
1-<10 anni	142-335 U/L	(2.37-5.59 µkat/L)
10-<13 anni	129-417 U/L	(2.15-6.96 µkat/L)
13-<15 anni	57-254 U/L	(0.95-4.24 µkat/L)
15-<17 anni	50-117 U/L	(0.84-1.95 µkat/L)
17-<19 anni	45-87 U/L	(0.75-1.45 µkat/L)

Roche non ha valutato gli intervalli di riferimento in una popolazione pediatrica.

Ogni laboratorio deve controllare l'applicabilità dei valori di riferimento alla propria popolazione di pazienti e, se necessario, determinare intervalli di riferimento propri.

Dati specifici sulla performance del test

Qui di seguito sono riportati i dati rappresentativi delle prestazioni sugli analizzatori. I risultati dei singoli laboratori possono differire da questi.

Precisione

La precisione è stata determinata usando campioni umani e controlli, eseguiti in base ad un protocollo interno: ripetibilità (n = 21), precisione intermedia (3 aliquote per serie, 1 serie al giorno, 21 giorni). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Ripetibilità	Media	DS	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	99.2 (1.65)	0.7 (0.01)	0.7
Precipath U	241 (4.02)	1 (0.02)	0.6
Siero umano 1	54.6 (0.912)	0.5 (0.008)	0.9
Siero umano 2	648 (10.8)	4 (0.1)	0.7
Precisione intermedia	Media	DS	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	92.8 (1.56)	2.2 (0.04)	2.4
Precipath U	224 (3.74)	4 (0.06)	1.7
Siero umano 3	82.2 (1.37)	1.8 (0.03)	2.1
Siero umano 4	1025 (17.1)	9 (0.2)	0.9

Confronto tra metodi

I valori della fosfatasi alcalina ottenuti per campioni di siero e di plasma umani su un analizzatore Roche/Hitachi **cobas c 501** con il reagente ALP IFCC Gen.2 (ALP2) tracciabile al metodo dell'IFCC[®] (y), sono stati confrontati con quelli determinati sullo stesso analizzatore con lo stesso reagente ALP2 tracciabile al metodo dell'IFCC¹⁴ (x).

Dimensione (n) del campione = 106

Passing/Bablok ¹⁵	Regressione lineare
$y = 1.05x + 0.064 \text{ U/L}$	$y = 1.04x + 0.388 \text{ U/L}$
$r = 0.993$	$r = 1.00$

Le attività dei campioni erano comprese tra 16.9 e 1149 U/L (tra 0.282 e 19.2 µkat/L).

Letteratura

- Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag 1995.
- King EJ, Armstrong AR. Can Med Assoc J 1934;31:376
- Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-231.
- Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. J Biol Chem 1946;164:321-329.
- Hausamen TU, Helger R, Rick W, et al. Optimal conditions for the determination of serum alkaline phosphatase by a new kinetic method. Clin Chim Acta 1967;15:241-245.
- Schumann G, Klauke R, Canalias F, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37° C. - Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. Clin Chem Lab Med 2011 Sep;49 (9):1439-46.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag 1996.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Abicht K, El-Samalouti V, Junge W, et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37 °C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001;39:Special Supplement pp S 346.

- Estey MP, Cohen AH, Colantonio DA, et al. CLSI-based transference of the CALIPER database of pediatric reference intervals from Abbott to Beckman, Ortho, Roche and Siemens Clinical Chemistry Assays: Direct validation using reference samples from the CALIPER cohort. Clin Biochem 2013;46:1197-1219.
- Tietz NW, Rinker AD, Shaw LM. International Federation of Clinical Chemistry. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes, Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:731-748.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

In questa metodica, per separare la parte intera da quella frazionaria in un numero decimale si usa sempre il punto. Il separatore delle migliaia non è utilizzato.

Simboli

Oltre a quelli indicati nello standard ISO 15223-1, Roche Diagnostics impiega i seguenti simboli (per gli USA: per la definizione dei simboli impiegati, vedere <https://usdiagnostics.roche.com>):

	Contenuto della confezione
	Volume dopo ricostituzione o mescolamento
	Global Trade Item Number

Le aggiunte, cancellazioni o modifiche sono indicate mediante una linea verticale posizionata al margine.

© 2018, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Distribuzione negli USA:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
Assistenza tecnica alla clientela negli USA: 1-800-428-2336

