

## DEFINIZIONE E SCOPO DEL TEST

La fosfatasi alcalina (ALP) è un enzima normalmente presente nel latte crudo che viene inattivato a condizioni di trattamento termico leggermente più drastiche di quelle richieste per la distruzione dei batteri patogeni. Quindi la ricerca dell'ALP nel latte pastorizzato serve per verificare che il processo termico di pastorizzazione sia avvenuto in modo corretto.

## PRINCIPIO DEL TEST



La fosfatasi alcalina induce l'idrolisi del p-Nitrofenilfosfato, in un mezzo alcalino, e forma un complesso giallo la cui intensità, misurata a 405 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di ALP nel campione.

## COMPOSIZIONE DEL KIT E DEI REAGENTI

Codice \*300225 - Il kit consente di effettuare 100 determinazioni e contiene 10 confezioni del codice \*300224

Codice \*300228 - Il kit consente di effettuare 10 determinazioni e contiene:

- R1: confezione con 10 provette pre-infilate con 1 mL di soluzione di dietanolamina e cloruro di magnesio.
- R2: flacone contenente 1 mL di p-Nitrofenilfosfato in tampone.

**Per le indicazioni di pericolosità dei reagenti far riferimento alla scheda di sicurezza del prodotto.**

**Modalità di conservazione:** I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza. Conservare a **2-8°C**.

## VOLUME DEL CAMPIONE - RANGE DI MISURA - ACCURATEZZA E LINEARITA'

Utilizzare latte pastorizzato di mucca.

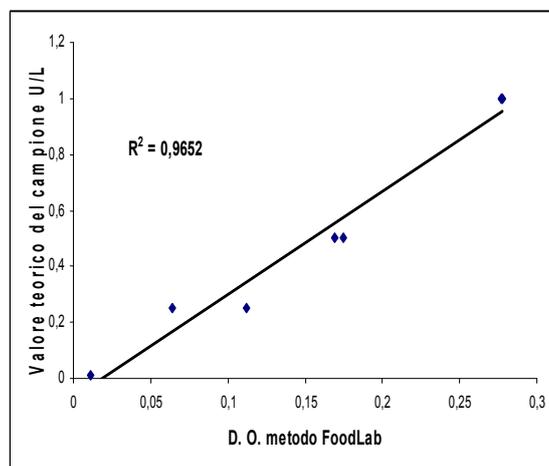
Analisi	Range di misura (U/L fosfatasi alcalina)	Risoluzione	Accuratezza	Ripetibilità	Volume di campione
ALP latte mucca	1 - 5	0,1	+/- 5%	CV <3%	<b>150 µL</b>

Per campioni con valori di U/L > 5 utilizzare metà volume di campione (75 uL) e moltiplicare il risultato ottenuto per 2.

## PROVE COMPARATIVE

La curva di calibrazione è stata effettuata utilizzando aggiunte di latte crudo, in diverse aliquote, a latte pastorizzato. I valori dichiarati sono in accordo con quanto riportato in letteratura ("ALP testing for milk pasteurization" Cornell University - Dairy science facts 1998).

% LATTE CRUDO	VALORE TEORICO U/L	Metodo Foodlab (D.O.)	Valore teorico (U/L)
Solo pastorizzato	<b>0,01</b>	<b>0,011</b>	0,01
0,05% latte crudo	<b>0,25</b>	<b>0,064</b>	0,25
0,1% latte crudo	<b>0,5</b>	<b>0,112</b>	0,25
0,1% latte crudo	<b>0,5</b>	<b>0,169</b>	0,5
0,1% latte crudo	<b>0,5</b>	<b>0,175</b>	0,5
0,2% latte crudo	<b>1</b>	<b>0,278</b>	1
0,2% latte crudo	<b>1</b>	<b>0,277</b>	1



## PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Le provette contenenti il **reagente R1**, contenute nella busta di alluminio, sono pre-infiolate e pronte all'uso. Il **reagente R2** è pronto all'uso.

## TECNICA OPERATIVA

1. Sulla schermata principale premere il tasto **2** per accedere alle analisi disponibili sul pozzetto di lettura n°2 oppure **0** per vedere la lista completa delle analisi disponibili sullo strumento.
2. Selezionare, dal menu, l'analisi **ALP latte mucca** e premere **ENTER**. Sul display appare **INCUBAZ. 10 MIN.**
3. Inserire in una provetta contenente il reagente **R1, 150 µL** di latte ed agitare 2-3 volte per inversione. Mettere la provetta nella cella di termostatazione. **Ripetere l'operazione per ogni campione** da analizzare. E' possibile analizzare fino a 14 campioni per ogni sessione di analisi. Premere **ENTER** per far partire l'incubazione.

**Note:** *Agitare la bottiglia contenente il campione, prima del prelievo.  
Pulire accuratamente l'esterno del puntale, con carta assorbente, dopo il prelievo del campione.  
Inserire il puntale della pipetta nel reagente e pipettare più volte per trasferire completamente il volume del campione prelevato.  
Per evitare inquinamenti dovuti alle analisi precedenti, utilizzare un nuovo puntale per ogni analisi.*

4. Al termine dell'incubazione premere **ENTER**, sul display appare **INSERIRE BIANCO**.
5. Aggiungere **50 µL** di reagente **R2** nella provetta preriscaldata, agitarla per inversione, e metterla nella cella di termostatazione. Agitare la provetta pre-riscaldata e inserirla nella cella di lettura indicata dalla luce verde. Premere **ENTER** per effettuare la lettura. **Ripetere l'operazione per ogni campione**.
6. Premere **STOP** con la **FRECCIA SU** per passare alla lettura dei campioni. Sul display appare **INCUBAZ. 15 MIN.**
7. Premere **ENTER** per far partire l'incubazione.
8. Al termine dell'incubazione premere **ENTER**, sul display appare **INSERIRE CAMPIONE**.
9. Agitare la provetta per inversione e inserirla nella cella di lettura indicata dalla luce verde. Premere **ENTER** per effettuare la lettura. **Ripetere l'operazione per ogni campione**.
10. Alla fine della sessione i risultati verranno stampati automaticamente espressi in U/L di fosfatasi alcalina.
11. Premere **ENTER** e **FRECCIA GIU** per tornare al menu analisi

## CURVA DI CALIBRAZIONE

Lo strumento lavora con una curva di calibrazione di "default". Si consiglia di eseguire una curva di calibrazione ad ogni cambio di lotto del reattivo. Per eseguire la curva di calibrazione procedere così:

- **Preparazione dei campioni standard:**

aggiungere, ad un latte appena pastorizzato, le seguenti aliquote di latte crudo (appena munto e senza alcun trattamento):

Std. 1 - solo latte pastorizzato: valore di ALP nel latte 0,01 U/L (10 mU/L)

Std. 2 - latte pastorizzato con 0,1% di crudo (es. 50µL di crudo in 50 mL pastorizzato): 0,50 U/L (500 mU/L)

Std. 3 - latte pastorizzato con 0,2% di crudo (es. 100µL di crudo in 50 mL pastorizzato): 1,00 U/L (1000mU/L)

- **Metodica operativa:**

1. Inserire in **EDIT** la funzione "**STD**" (vedi manuale operativo)
2. Selezionare, dal menu, l'analisi **ALP latte mucca** e premere **ENTER**. Sul display appare **Inserire Conc. 1, 2, 3 ...**
3. Inserire le concentrazioni degli standard e premere **ENTER**.
4. Premere **STOP** con la **FRECCIA SU** per passare alla lettura degli standard.
5. Effettuare le analisi seguendo i punti della **TECNICA OPERATIVA**.
6. Alla fine della sessione viene visualizzato il "fattore K", il "q offset" ed il coefficiente di correlazione al quadrato della retta di regressione calcolata "r<sup>2</sup>".
7. Per memorizzare premere "**MEMO**" con la **FRECCIA SU**, i valori vengono automaticamente riportati in **Edit**.
8. Inserire in **EDIT** la funzione "**ANL**" per ripristinare la modalità analitica.

Solo per uso diagnostico *in vitro*