

# FOSFATASI ALCALINA SL

Metodo cinetico - DGKC  
Reagenti liquidi pronti all'uso

REF. 4096 2x 50 ml  
REF. 4097 2x100 ml



AZIENDA CERTIFICATA DNV  
UNI EN ISO 9001:2008  
UNI EN ISO 13485:2012



## USO PREVISTO

Determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina (ALP) nel siero e nel plasma con metodo ottimizzato secondo DGKC.

## PRINCIPIO

L'enzima fosfatasi alcalina idrolizza il p-nitrofenilfosfato (4-NPP) rilasciando il p-nitrofenolo (4-NP) il cui tasso di formazione può essere misurato spettrofotometricamente a 405 nm per quantificare l'attività dell'enzima presente nel campione.

## CAMPIONE

Siero, plasma con eparina. Non usare altri anticoagulanti come EDTA, citrato ed ossalato in quanto inibiscono l'enzima. Evitare campioni emolizzati.

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.

## COMPONENTI FORNITI

Reagente (A) ALP Volume = 40/80 ml	Tampone DEA Magnesio cloruro	1 mol/l 0.5 mmol/l
Reagente (B) ALP Volume = 10 ml	p-nitrofenilfosfato	10 mmol/l

I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce. Non congelare. Una volta aperti, i reagenti sono stabili 2 mesi a 2-8°C se sono state evitate contaminazioni. Conservare i flaconi chiusi quando non in uso.

## PREPARAZIONE DEL REAGENTE

Reagenti liquidi, da portare a temperatura ambiente (15-25°C) prima dell'uso. Per l'utilizzo come monoreagente: aggiungere una parte di Reagente (B) a 4 parti di Reagente (A).

La soluzione di lavoro (A+B) è stabile 1 settimana a 2-8°C.

## PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

### Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP):

Reagente (A) :



### Pericolo

**H373** Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

**H318** Provoca gravi lesioni oculari.

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

**P305+P351+P338** 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.

**P310** Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico

**P314** In caso di malessere, consultare un medico.

Contiene: DIETANOLAMMINA.

I reagenti possono contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. Utilizzare le normali precauzioni previste in laboratorio.

Smaltire i rifiuti secondo le norme locali vigenti.

## PROCEDIMENTO

Lunghezza d'onda:	405 nm (410 nm)
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	37°C
Letture:	contro acqua distillata
Metodo:	cinetica in incremento

## Utilizzo come monoreagente:

pipettare:

Soluzione di lavoro (A+B)	1000 µl
campione	20 µl

Mescolare, incubare a 37°C per 1 minuto, leggere l'assorbanza iniziale contro acqua. Effettuare 3 letture a distanza di 60 secondi.

Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

## Utilizzo come bireagente:

pipettare:

Reagente (A)	800 µl
campione	20 µl

agitare e dopo 1 minuto aggiungere:

Reagente (B)	200 µl
--------------	--------

Mescolare, incubare a 37°C per 1 minuto, leggere l'assorbanza iniziale contro acqua. Effettuare 3 letture a distanza di 60 secondi.

Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

La presente metodica descrive l'utilizzo del kit in manuale.

Per l'utilizzo con analizzatori automatici, consultare le applicazioni specifiche.

## CALCOLO DEI RISULTATI

Effettuare il calcolo in Unità/litro moltiplicando il  $\Delta A/\text{min}$  per il fattore come di seguito indicato:

$$\text{Attività in U/L} : \Delta A/\text{min} \times 2480 (*)$$

(\*) Fattore calcolato all'interno dei nostri laboratori. Si consiglia l'uso del Calibratore di Chimica Clinica (Ref. 6002/8 - 8x3 ml) per verificare che tale fattore sia corretto per il proprio sistema di analisi.

## INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Adulti:	98 – 279	U/L
Bambini:	250 – 775	U/L

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire gli intervalli di riferimento in relazione alla propria popolazione.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

E' 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. A tale scopo si consiglia l'uso dei sieri di controllo: PRECISENORM (REF.6000) e PRECISEPATH (REF.6001).

## PRESTAZIONI DEL METODO

Sensibilità: la sensibilità del metodo è: 15 U/L.

Linearità: il metodo è lineare fino a 1600 U/L. Per valori superiori, diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato per 10.

### Precisione nella serie:

	Livello1	Livello 2	Livello 3
Media (U/l)	174.6	316.7	596.2
DS	2.547	1.767	9.223
CV %	1.46	0.56	1.55

### Precisione tra le serie:

	Livello1	Livello 2	Livello 3
Media (U/l)	183.5	328.8	591.8
DS	1.958	4.517	6.015
CV %	1.07	1.37	1.02

Interferenze: la bilirubina non interferisce fino a una concentrazione di 20 mg/dl. I trigliceridi non interferiscono fino a 1000 mg/dl. L'emoglobina non interferisce fino alla concentrazione di 400 mg/dl.

Il glucosio non interferisce fino a 500 mg/dl.

Correlazione con metodo di riferimento:  $Y = 0.96x - 2.7$   $r = 0.999$

## BIBLIOGRAFIA

- J. Clin. Chem. Clin. Biochem 8 658 (1970).
- Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).

Giesse Diagnostics srl

V. Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18,300 -00012 Guidonia Montecelio (RM) - Italia

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: [info@giessediagnostics.com](mailto:info@giessediagnostics.com) - web site: [www.giessediagnostics.com](http://www.giessediagnostics.com)

409707

Ed. 2015/05 rev. 05

# ALKALINE PHOSPHATASE SL

Kinetic Method - DGKC  
Liquid Reagent ready to use

REF. 4096 2x 50 ml  
REF. 4097 2x100 ml



DNV CERTIFIED COMPANY

UNI EN ISO 9001:2008  
UNI EN ISO 13485:2012



## INTENDED USE

Quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP) in serum and plasma in accordance with DGKC recommendations.

## PRINCIPLE

The enzyme alkaline phosphatase hydrolyzes the p-nitrophenylphosphate (4-NPP) to releasing the p-nitrophenol (4-NP) whose formation rate can be measured spectrophotometrically a 405 nm to quantify the activity of the enzyme present in the sample.

## SAMPLE

Serum, plasma with heparin. Do not use other anticoagulants such as EDTA, oxalate and citrate by inhibiting the enzyme. Avoid hemolyzed samples.

Sera kept at room temperature usually show a slight increase in activity, which varies from 1 % over a 6-h period to 3-6 % over a 1 to 4 days period. Even in sera stored at refrigerator temperature, activity increases slowly. In frozen sera, activity decreases but slowly recovers after thawing the serum.

## KIT COMPONENTS

Reagent (A) ALP Volume = 40/80 ml	Buffer DEA Magnesium chloride	1 mol/l 0.5 mmol/l
Reagent (B) ALP Volume = 10 ml	p-nitrophenylphosphate	10 mmol/l

The reagents are stable until the expiration date indicated on the label if stored at 2-8°C and protected from light. Do not freeze. Once opened reagents are stable for 2 months at 2-8°C if contamination is avoided.

Keep bottles closed when not in use.

## REAGENTS PREPARATION

Liquid Reagents, bring Reagent to room temperature (15-25°C) before use.

For use as monoreagent: add a part of Reagent (B) to 4 parts of Reagent (A).

The working solution (A+B) is stable 1 week at 2-8°C.

## PRECAUTIONS AND WARNINGS

### EC Regulation 1272/2008 (CLP):

Reagent (A):



**Danger**

**H373** May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure.

**H318** Causes serious eye damage..

**P280** Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

**P305+P351+P338** IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

**P310** Immediately call a POISON CENTER or doctor / physician.

**P314** Get medical advice / attention if you feel unwell.

**Contains:** DIETHANOLAMINE.

Reagents may contain some non-reactive and preservative components. Use the normal precautions required in the laboratory.

Dispose of waste according to local laws.

## PROCEDURE

Wavelength:	405 nm (410 nm)
Lightpath :	1 cm
Temperature:	37°C
Reading:	against distilled water
Method:	increasing kinetic

## Use as monoreagent:

pipette:

Working solution (A+B) 1000 µl

sample 20 µl

Mix, incubate at 37°C for 1 minute, read the initial absorbance against water. Make 3 readings at a distance of 60 seconds. Calculate the average value of the absorbance variations per minute. (ΔA/min).

## Use as bireagent:

pipette:

Reagent (A) 800 µl

sample 20 µl

mix and after 1 minute add:

Reagent (B) 200 µl

Mix, incubate at 37°C for 1 minute, read the initial absorbance against water. Make 3 readings at a distance of 60 seconds. Calculate the average value of the absorbance variations per minute. (ΔA/min).

This method describes the manual procedure to use the kit.

For automated procedure, ask for specific applications.

## RESULTS CALCULATIONS

Perform calculation in Units per litre, multiplying the ΔA/min by the factor as it is indicated:

$$\text{Activity in U/L} : \Delta A/\text{min} \times 2480 (*)$$

(\*) Factor calculated in our laboratories. We recommend the use of Clinical Chemistry Calibrator (Ref. 6002/8 - 8x3 ml) to verify that this factor is correct for your test system.

## EXPECTED VALUES

Adults: 98 – 279 U/L

Children: 250 – 775 U/L

Each laboratory should establish appropriate reference intervals related to its population.

## QUALITY CONTROL

You must perform the controls at each kit's use and verify that the values obtained are within the reference range reported in the operating instructions. For this purpose we recommend the use of control sera: PRECISENORM (REF.6000) and PRECISEPATH (REF.6001).

## PERFORMANCE

**Sensitivity:** the sensitivity of the method is: 15 U/L.

**Linearity:** the method is linear up to 1600 U/L. For higher values, dilute the sample 1:10 and multiply the result by 10.

**Precision intra-assay:**

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (U/l)	174.6	316.7	596.2
DS	2.547	1.767	9.223
CV %	1.46	0.56	1.55

**Precision inter-assay:**

	Level 1	Level 2	Level 3
Mean (U/l)	183.5	328.8	591.8
DS	1.958	4.517	6.015
CV %	1.07	1.37	1.02

**Interferences:** bilirubin does not interfere up to 20 mg/dl. Triglycerides do not interfere up to 1000 mg/dl. Hemoglobin does not interfere up to 400 mg/dl. Glucose up to 500 mg/dl does not interfere.

**Correlation against a reference method:**  $Y = 0.96x - 2.7$   $r = 0.999$

## REFERENCES

1. J.Clin. Chem. Clin. Biochem 8 658 (1970).
2. Vassault, A. et al. Ann. Biol. Clin., 44,686 (1986).

Giesse Diagnostics srl

V. Enrico Fermi, 3 - Z.I. V. Tiburtina Km 18,300 -00012 Guidonia Montecelio (RM) - Italia

Tel. +39 0774 051100 - Fax +39 0774 051111

e-mail: [info@giessediagnostics.com](mailto:info@giessediagnostics.com) – web site: [www.giessediagnostics.com](http://www.giessediagnostics.com)

409707

Ed. 2015/05 rev. 05