

FOSFATASI ALCALINA SL

Metodo cinetico- DGKC
Reagenti liquidi pronti all'uso



REF. 4096 1x100 ml
REF. 4097 2x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

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 = 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.

H315 Provoca irritazione cutanea.

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.

P280 Indossare guanti protettivi e proteggere gli occhi/il viso.

P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico

P264 Lavare accuratamente con acqua dopo l'uso

Contiene: DIETANOLAMINA

Reagente (B) :

EUH210 Scheda di sicurezza disponibile su richiesta

EUH208 Contiene MIT, può provocare una reazione allergica.

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
Lettura:	contro acqua distillata
Metodo:	cinetica in incremento

Utilizzo come monoreagente:

pipettare:	
Soluzione di lavoro (A+B)	1000µl
campione	20µl
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 ($\Delta A/min$).	

Utilizzo come bireagente:

pipettare:	
Reagente (A)	800µl
campione	20µl
agitare e dopo 1 minuto aggiungere:	
Reagente (B)	200µl
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 ($\Delta A/min$).	
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 $\Delta A/min$ per il fattore come di seguito indicato:

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

(*) Fattore calcolato all'interno dei nostri laboratori. Si consiglia l'uso del Calibratore di Chimica Clinica (Ref. 6002/6 - 6002/12) 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:

	Livello 1	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:

	Livello 1	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:

$$Y = 0.96x - 2.7 \quad r = 0.999$$

BIBLIOGRAFIA

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

ALKALINE PHOSPHATASE SL

Kinetic Method - DGKC
Liquid Reagent ready to use



REF. 4096 1x100 ml
REF. 4097 2x100 ml

COMPANY WITH
QUALITY SYSTEM
ISO 9001 - ISO 13485
Certified by IMQ

GIESSE[®]
DIAGNOSTICS

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 at 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 = 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.

H315 Causes skin irritation.

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

P280 Wear protective gloves / eye protection / face protection.

P310 Immediately call a POISON CENTER or doctor / physician.

P264 Wash with water thoroughly after handling.

Contains: DIETHANOLAMINE

Reagent (B) :

EUH210 Safety data sheet available on request.

EUH208 Contains: MIT, May produce an allergic reaction.

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) 1000µl

sample 20µl

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) 800µl

sample 20µl

mix and after 1 minute add:

Reagent (B) 200µl

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:

Activity in U/L : ΔA/min x 2480 (*)

(*) Factor calculated in our laboratories. We recommend the use of Clinical Chemistry Calibrator (Ref. 6002/6 - 6002/12) 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
SD	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
SD	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 – web site: www.giessediagnostics.com

409707

Ed. 2025/11 rev. 07