

# Alkaline PHOSPHATASE

Metodo Cinetico – DGKC

R1: 2 x 40 ml + R2: 2 x 10 ml  
R1: 2 x 80 ml + R2: 2 x 20 ml

CL32-100  
CL32-200

## USO PREVISTO

Kit per la determinazione quantitativa della fosfatasi alcalina nel siero e nel plasma secondo metodo S.C.E.

## SIGNIFICATO CLINICO

La fosfatasi alcalina (ALP) è un enzima presente in diversi tessuti del corpo, in particolare nelle ossa e nel fegato. Il suo dosaggio serve a individuare alcune condizioni patologiche dello scheletro, oppure a chiarire la natura di alcune malattie epatiche.

## PRINCIPIO

La fosfatasi alcalina idrolizza il p-nitrofenilfosfato in fosfato e p-nitrofenolo. La variazione di assorbanza nell'unità di tempo misurata a 405 nm è proporzionale all'attività dell'enzima presente nel campione.

## CAMPIONE

Siero, plasma (solo eparina).  
Evitare campioni emolizzati.

**STABILITÀ:** conservare i campioni a 2-8°C ed effettuare il dosaggio il prima possibile. I campioni tenuti a temperatura ambiente mostrano un incremento nell'attività, che va dallo 1% in 6 ore fino a 2-6% dopo 1-4 giorni.

## REAGENTI

Solo per uso diagnostico in Vitro. Reagenti liquidi pronti all'uso.

Contenuto delle confezioni:	CL32-100	CL32-200
<b>REAGENT 1</b> Tampone DEA/HCl (pH 10.0) 1 mol/L, magnesio cloruro 0.5 mmol/L.	2 x 40 ml	2 x 80 ml
<b>REAGENT 2</b> Tampone Glicina (pH 9.5) 30 mmol/L, p-nitrofenilfosfato 50 mmol/L, sodio azide 15 mmol/L.	2 x 10 ml	2 x 20 ml

**STABILITÀ:** i reagenti, se conservati a 2-8°C e protetti dalla luce, sono stabili fino alla data di scadenza indicata in etichetta. 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. Non utilizzare i reagenti in caso di torbidità.

## MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Normale strumentazione di laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica.

## PREPARAZIONE DEL REAGENTE DI LAVORO

(solo per procedimento monoreagente)

Miscelare 4 volumi di Reagent 1 con 1 volume di Reagent 2.

**STABILITÀ:** 5 giorni a 20-25°C, 4 settimane a 2-8°C se conservato ben chiuso ed al riparo dalla luce.

## PROCEDIMENTO MANUALE

Metodo:	cinetica in incremento
Lunghezza d'onda:	405 nm
Cammino ottico:	1 cm
Temperatura:	25, 30, 37°C
Tempo di lettura:	3 minuti
Letture:	contro aria o acqua distillata
Ratio Campione/Reagenti (bireagente):	1/100/25
Ratio Campione/Reagente (monoreagente):	1/100

## PROCEDIMENTO BIREAGENTE

Portare i reagenti necessari per l'esecuzione del test alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in cuvetta:

Campione	20 µl
Reagent 1	1,0 ml

Mescolare ed incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Aggiungere:

Reagent 2	250 µl
-----------	--------

Incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

## PROCEDIMENTO MONOREAGENTE

Portare il reagente di lavoro necessario per l'esecuzione del test alla temperatura prescelta per l'analisi.

Pipettare in cuvetta:

Campione	20 µl
Reagente di lavoro	1,0 ml

Incubare alla temperatura prescelta per 1 minuto. Leggere l'assorbanza iniziale, ripetere la lettura ad intervalli costanti di 1 minuto per 3 minuti. Calcolare il valore medio delle variazioni di assorbanza per minuto ( $\Delta A/\text{min}$ ).

I volumi di reazione (per entrambi i procedimenti) possono essere variati proporzionalmente senza alcuna modifica nel calcolo.

## CALCOLO

Calcolare l'attività enzimatica nel campione analizzato moltiplicando il  $\Delta A/\text{min}$  trovato per il fattore opportuno riportato nella seguente tabella.

Procedimento Monoreagente	Procedimento Bireagente
2757	3424

## INTERVALLO DI RIFERIMENTO

	25°C	30°C	37°C
Adulti	60 ÷ 180 U/L	80 ÷ 210 U/L	100 ÷ 275 U/L
Bambini	110 ÷ 172 U/L	145 ÷ 950 U/L	180 ÷ 1200 U/L

E' comunque opportuno che ciascun laboratorio provveda a definire il proprio intervallo di riferimento.

## CONTROLLO DI QUALITÀ - CALIBRAZIONE

Si raccomanda un programma di Controllo Qualità a tutti i laboratori di Chimica Clinica. Allo scopo sono disponibili a richiesta sieri di controllo a base umana:

**PRE-NORM** sieri con valori nell'ambito della normalità

**PRE-PATH** sieri con valori patologici.

Se il metodo lo richiede è disponibile un calibratore multiparametrico a base umana. Contattare FAR per ulteriori informazioni.

## PRESTAZIONI DEL METODO

### Sensibilità

La sensibilità del metodo è di 5 U/L.

### Linearità

Il metodo è lineare fino a 2500 U/L (a 37°C).

Per valori superiori diluire i campioni 1:10 con soluzione fisiologica e moltiplicare il risultato ottenuto per 10.

### Precisione

nella serie (n=10)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	182,6	4	2,2
Campione 2	510,9	10,2	2

  

tra le serie (n=20)	Media [U/L]	SD	CV %
Campione 1	194,2	9,9	5,1
Campione 2	490,7	28,5	5,9

### Interferenze

La bilirubina non interferisce fino ad una concentrazione di 30 mg/dl.

I detergenti inibiscono l'enzima, si consiglia di usare materiale monouso.

### Correlazione con metodo di riferimento

La correlazione del metodo (Y) con un metodo di riferimento (X) ha evidenziato la seguente equazione:

$$Y = 1,0583X + 2,8975 \quad r = 0,9973$$

## SMALTIMENTO

Il prodotto deve essere utilizzato all'interno di analisi professionali.

Il prodotto va smaltito in conformità alla regolamentazione nazionale/internazionale.

## PRECAUZIONI



**ATTENZIONE** il REAGENTE 1 provoca grave irritazione oculare (H319). Provoca irritazione cutanea (H315).

**IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE:** sciacquare abbondantemente con acqua. IN

**CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI:** sciacquare accuratamente per parecchi minuti.

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

Il REAGENTE 2 Non è classificato come pericoloso.

## BIBLIOGRAFIA

- Scandinavian Society for Clinical Chemistry, Committee on Enzymes. Recommended methods for the determination of four enzymes in blood. Scan. J. Clin. Lab. Invest. 33, 291, (1974).
- German Society for Clinical Chemistry, Standard method for determination of Alkaline Phosphatase (AP) activity. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 10, 290 (1972).
- NCCLS Document, "Procedures for the collection of arterial blood specimens", Approved Standard, 3rd Ed. (1999).
- EU-Dir 1999/11 Commission Directive of 8 March 1999 adapting to technical progress the principles of good laboratory practice as specified in Council Directive 87/18/EEC.

## PRODUTTORE

FAR

Via Fermi, 12 - 37026 Pescantina - VERONA - ITALY

tel +39 045 6700870

sito web <http://www.farddiag.com> e-mail: [order@farddiag.com](mailto:order@farddiag.com)

## LEGENDA SIMBOLI

	dispositivo medico diagnostico in vitro
	numero di lotto
	numero di catalogo
	limite di temperatura
	usare entro la data
	attenzione
	consultare le istruzioni d'uso