

# FOSFATASA ALCALINA LIQUIDA

## METODO IFCC

Para la determinación "in vitro" de la Fosfatasa Alcalina en suero o plasma



### Principio



### Reactivos

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 62 65). Contiene:

A. 1 x 40 ml. Disolución tampón. Ref. 99 71 04  
B. 1 x 10 ml. Sustrato. Ref. 99 84 39

Kit 1 x 125 ml. (Ref. 99 55 15). Contiene:

A. 1 x 100 ml. Disolución tampón. Ref. 99 49 13  
B. 1 x 25 ml. Sustrato. Ref. 99 67 43

### Reactivo de trabajo

Los reactivos A y B, están listos para su uso. En caso de que se quiera trabajar como Monorreactivo: mezclar los volúmenes deseados, pero manteniendo la proporción 4 partes de A (Disol. tampón) + 1 parte de B (Sustrato).

Las concentraciones en la disolución reactiva son:

Tampón 2-Amino-2-metil-1-propanol pH 10,4 0,7 M  
p-Nitrofenilfosfato 12 mM  
HEDTA 1,55 mM  
Acetato Mg 1,5 mM  
Sulfato de zinc 0,95 mM  
Estabilizantes y conservantes

### Conservación y estabilidad

Los componentes del kit almacenados en refrigerador a 2-8°C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez mezclados los componentes A y B, dicha disolución monorreactiva es estable 3 semanas mantenida a 2-8°C y 1 semana a temperatura ambiente ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ), siempre que se mantenga al abrigo de la luz.

### Muestra

Suero o plasma con heparina. Utilizar muestras exentas de hemólisis. Los sueros mantenidos en refrigerador a 2-8°C, son estables durante 7 días.

### Precauciones

El reactivo contiene Azida sódica al 0,09%, manipular con precaución. La eliminación de residuos debe hacerse según la normativa legal vigente.

Técnica Monorreactivo (37°C)	ml
R. de trabajo	1,0
Muestra	0,02

Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3, 4 min.

Técnica Birreactivo	ml
Disol. tampón (A)	1,0
Muestra	0,02

Mezclar e incubar aprox. 1 min. Seguidamente añadir:

Sustrato (B)	0,25
--------------	------

Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Transferir a la cubeta de lectura y leer las absorbancias después de 1, 2, 3, 4 min.

### Lectura

Longitud de onda: Hg 405 nm.  
Blanco: Agua.  
Cubeta: termostatzada, 1 cm de paso de luz.

### Cálculos

Determinar la  $\Delta E/\text{min.}$  obtenida en cada lectura y hallar el valor medio.  $U/L = (\Delta E/\text{min.}) \times \text{Factor.}$

**Monorreactivo**  
405 nm Factor: **2760**

**Birreactivo**  
405 nm Factor: **3432**

### Valores normales

Adultos  
Mujeres: 42 – 141 U/L  
Hombres: 53 – 128 U/L  
Niños: Los niveles son muy variables. Hasta los 18 años se pueden encontrar valores entre 42–383 U/L.  
En mujeres embarazadas el valor puede ser el doble que en mujeres no embarazadas.

### Prestaciones. Características de funcionamiento.

Linealidad: Hasta  $\Delta E/\text{min.}$  de 0,250. Para valores superiores se aconseja diluir la muestra 1/10 con salina (NaCl 0,9%) y repetir el ensayo. Multiplicar el resultado por 10.

Las características de funcionamiento del producto dependen tanto del reactivo como del sistema de lectura manual o automático empleados. Los siguientes datos se han obtenido de forma manual:

Coefficiente de Variación en la serie: 2,09 %.  
Coefficiente de Variación entre series: 2,14 %.  
Exactitud: 98,5 de porcentaje de recuperación.

Sueros hemolizados y lipémicos interfieren en el ensayo. No pueden utilizarse anticoagulantes tipo EDTA, oxalato o citrato, por su acción quelante de metales divalentes, que da lugar a una inhibición del enzima.

### Control de calidad

Seriscann Normal (Ref. 99 41 48) y Seriscann Anormal (Ref. 99 46 85).

### Autoanalizadores

Adaptaciones a distintos analizadores automáticos, disponibles bajo demanda.

### Bibliografía

Szasz, G., Rautenburg, H.W. (1971). Z. Kinderheilk., 111, 233 - 239.  
George N., Bowers Jr, and Rober B., (1975). Clin. Chem., vol 21; N° 13. Measurement of Total Alkaline phosphatase activity in human serum.  
Tietz N.W., Rinker D., Shaw L.M. (1983). IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 5: IFCC method for Alkaline phosphatase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.; 21, 731 - 748.  
Soldin J.S., Brugnara, C., Wong, E.C., (2003). Pediatric references ranges. Washington AACC Press; p.10.

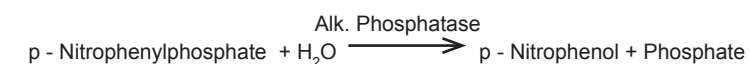
# ALKALINE PHOSPHATASE LIQUID

## IFCC METHOD

For "in vitro" determination of Alkaline Phosphatase in serum or plasma



### Principle



### Reagents

Kit 1 x 50 ml. (Ref. 99 62 65). Contents:

A. 1 x 40 ml. Buffer solution. Ref. 99 71 04  
B. 1 x 10 ml. Substrate. Ref. 99 84 39

Kit 1 x 125 ml. (Ref. 99 55 15). Contents:

A. 1 x 100 ml. Buffer solution. Ref. 99 49 13  
B. 1 x 25 ml. Substrate. Ref. 99 67 43

### Working reagent

Reagents A and B are ready-to-use. If a Monoreagent procedure is preferred, then the reagents must be mixed in the ratio: 4 parts of A (Buffer solution) + 1 part of B (Liquid substrate).

2-Amino-2-methyl-1-propanol buffer pH 10.4 0.7 M  
p-Nitrophenylphosphate 12 mM  
HEDTA 1.55 mM  
Mg Acetate 1.5 mM  
Zinc Sulphate 0.95 mM  
Preservatives and stabilizers

### Storage and stability

The components of the kit, stored at 2-8°C, will remain stable until the expiration date stated on the label. The Monoreagent is stable for 3 weeks at 2-8°C and for 1 week at room temperature ( $\leq 25^\circ\text{C}$ ), when protected from the sunlight.

### Sample

Serum or heparinized plasma. Use samples free from hemolysis. Sera kept in the refrigerator at 2-8°C will remain stable for 7 days.

### Caution

The reagent contains Sodium azide at 0.09%. Handle with care. The disposal of the residues has to be made according to legal local regulations.

Monoreagent Procedure	ml
Working reagent	1.0
Sample	0.02

Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2, and 3 min.

Bireagent Procedure	ml
Buffer solution. (A)	1.0
Sample	0.1

Mix, incubate for approx. 1 minute and then add:

Substrate (B)	0.25
---------------	------

Mix, read the absorbance after 1 min. and start the stopwatch. Read again the absorbance after 1, 2, and 3 min.

### Reading

Wavelength: Hg 405 nm.  
Blank: Water.  
Cuvette: Thermostatzed 1 cm light-path.

### Calculations

Determine the  $\Delta E/\text{min.}$  For every reading and find the mean value.  $U/L = (\Delta E/\text{min.}) \times \text{Factor.}$

**Monoreagent**  
405 nm Factor: **2760**

**Bireagent**  
405 nm Factor: **3432**

### Normal values

Adults  
Women: 42 – 141 U/L  
Men: 53 – 128 U/L  
Children: Levels are very changeable. Up to 18 years old, its possible to find values between 42 – 383 U/L.  
In pregnancy women the Alkaline phosphatase value can be the double than not pregnancy women.

### Performance Characteristics

Linearity: up to  $\Delta E/\text{min.}$  values of 0.250. For higher values it is recommended to dilute the sample 1/10 with normal saline (NaCl 0.9%) and assay it once again.

Multiply the final result by 10. The analytical performance characteristics of the product depend both of the reagent and the reading system used, manual or automatic. The following data have been obtained manually.

Intraseres Variation Coefficient: 2.09 %.  
Interseres Variation Coefficient: 2.14 %.  
Recovery: 98.5 %.

Hemolysis and lipemia will interfere the assay. Anticoagulants such as EDTA, oxalate or citrate which chelate divalent cations should not be used since they would result in enzyme inhibition.

### Quality control

Seriscann Normal (Normal Control Serum) (Ref. 99 41 48) and Seriscann Anormal (Abnormal Control Serum) (Ref. 99 46 85).

### Autoanalyzers

Technical bulletins for different analyzers are available upon request.

### References

Szasz, G., Rautenburg, H.W. (1971). Z. Kinderheilk., 111, 233 - 239.  
George N., Bowers Jr, and Rober B., (1975). Clin. Chem., vol 21; N° 13. Measurement of Total Alkaline phosphatase activity in human serum.  
Tietz N.W., Rinker D., Shaw L.M. (1983). IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 5: IFCC method for Alkaline phosphatase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.; 21, 731 - 748.  
Soldin J.S., Brugnara, C., Wong, E.C., (2003). Pediatric references ranges. Washington AACC Press; p.10.

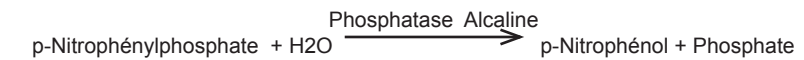


# PHOSPHATASE ALCALINE LIQUIDE

MÉTHODE IFCC

Pour la détermination in vitro de la phosphatase alcaline dans le sérum ou le plasma

## Principe



## Réactifs

**Kit 1 x 50 ml (Réf. 99 62 65).** Contenu:

A. 1 x 40 ml Solution tampon.	Réf. 99 71 04
B. 1 x 10 ml Substrat.	Réf. 99 84 39

**Kit 1 x 125 ml (Réf. 99 55 15).** Contenu:

A. 1 x 100 ml Solution tampon.	Réf. 99 49 13
B. 1 x 25 ml Substrat.	Réf. 99 67 43

## Réactif de travail

Les réactifs A et B sont prêts à l'emploi. En cas d'utilisation de la technique en mode Monoréactif: mélanger les volumes souhaités, mais en maintenant la proportion 4 volumes de A (solution tampon) + 1 volume de B (substrat).

Les concentrations dans la solution réactive sont les suivantes:

Tampon 2-amino-2-méthyl-1-propanol pH 10,4	0,7 M
p-nitrophénylphosphate	12 mM
HEDTA	1,55 mM
Acétate de Mg	1,5 mM
Sulfate de zinc	0,95 mM
Stabilisants et conservateurs	

## Conservation et stabilité

Conservés au réfrigérateur entre 2 et 8 °C, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Une fois les composants A et B mélangés, cette solution monoréactive est stable pendant trois semaines entre 2 et 8 °C et une semaine à température ambiante ( $\leq 25$  °C), toujours à l'abri de la lumière.

## Échantillon

Sérum ou plasma hépariné. Utiliser des échantillons exempts d'hémolyse. Conservés au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C, les sérums sont stables pendant 7 jours.

Technique Monoréactif (37 °C)	ml
R. de travail	1,0
Échantillon	0,02

Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 4 minutes.

Technique Biréactif	ml
Solution tampon (A)	1,0
Échantillon	0,02

Mélanger et incubé pendant environ une minute. Ajouter ensuite:

Substrat (B)	0,25
--------------	------

Mélanger puis mettre en marche le chronomètre. Transférer à la cuvette de lecture puis lire les absorbances toutes les minutes pendant 4 minutes.

## Lecture

Longueur d'onde: Hg 405 nm  
Blanc: eau  
Cuvette: thermostatée de 1 cm de trajet optique.

## Calculs

Déterminer la valeur  $\Delta E/\text{min}$  obtenue à chaque lecture ainsi que la valeur moyenne.

$U/l = (\Delta E/\text{min}) \times \text{facteur}$ .

## Mode Monoréactif

405 nm Facteur: 2.760

## Mode Biréactif

405 nm Facteur: 3.432

## Valeurs normales

Adultes

Femmes: 42 à 141 U/l

Hommes: 53 à 128 U/l

Enfants: les taux sont très variables. Jusqu'à 18 ans, on peut observer des valeurs comprises entre 42 et 383 U/l

Chez les femmes enceintes, la valeur peut doubler celle des femmes qui ne sont pas enceintes.

## Précautions d'emploi

Le réactif contient de l'azide de sodium à 0,09 %. Manipuler avec précaution. L'élimination des déchets doit être effectuée conformément aux normes en vigueur.

## Fonctionnement et caractéristiques de performance du dispositif.

Linéarité: jusqu'à la valeur  $\Delta E/\text{min}$  de 0,250. Pour des valeurs supérieures, il est conseillé de diluer l'échantillon au 1/10 avec la solution saline (NaCl 0,9 %) puis de répéter l'essai. Multiplier le résultat par 10.

Le fonctionnement du produit dépend tant du réactif que du système de lecture manuel ou automatique utilisé. Une technique manuelle a permis d'obtenir les données suivantes:

Coefficient de variation dans la série: 2,09 %.

Coefficient de variation entre les séries: 2,14 %.

Exactitude: le pourcentage de récupération est de 98,5 %.

Les sérums hémolysés et lipémiques interfèrent avec l'essai.

Ne pas utiliser d'anticoagulants de type EDTA, oxalate ou citrate en raison de leur effet chélateur sur les métaux divalents, qui provoque une inhibition de l'enzyme.

## Contrôle de qualité

Seriscann normal (Réf. 99 41 48) et Seriscann anormal (Réf. 99 46 85).

## Analyseurs automatiques

Des adaptations à différents analyseurs automatiques sont disponibles sur demande.

## Bibliographie

Szasz, G., Rautenburg, H.W. (1971). Z. Kinderheilk., 111, 233 - 239.  
George N., Bowers Jr, and Rober B., (1975). Clin. Chem., vol 21; N° 13. Measurement of Total Alkaline phosphatase activity in human serum.  
Tietz N.W., Rinker D., Shaw L.M. (1983). IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 5: IFCC method for Alkaline phosphatase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.; 21, 731 - 748.  
Soldin J.S., Brugnara, C., Wong, E.C., (2003). Pediatric references ranges. Washington AACC Press; p.10.