

Reactivo de Fosfatasa Alcalina (ALP)

Líquido de dos partes

RESUMEN DEL PRODUCTO

Estabilidad	:	Hasta fecha caducidad a 2-8°C
Intervalo Lineal	:	Hasta 2000 U/L (33,3 µkat/L)
Tipo de muestra	:	Suero y Plasma
Método	:	Cinético
Preparación del reactivo	:	Suministrado listo para su uso.

IVD

SÍMBOLOS EN EL ETIQUETADO DEL PRODUCTO

	Representante autorizado		Limitación de temperatura
	Para uso en diagnósticos in vitro		Usar hasta/Fecha de caducidad
	Código de lote/Número de lote		PRECAUCIÓN. Consulte las instrucciones de uso.
	Número de catálogo		Fabricado por
	Consulte las instrucciones de uso		
	Reactivo 1 (R1)		Reactivo 2 (R2)

USO PREVISTO

Este reactivo está pensado para la determinación cuantitativa in vitro del ALP (fosfohidrolasa de monoésteres ortofosfóricos, óptima en condiciones alcalinas, EC 3.1.3.1) en suero o en plasma humano en sistemas tanto manuales como automáticos.

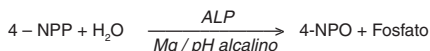
RELEVANCIA CLÍNICA¹

La ALP humana está compuesta por un grupo de enzimas (al menos 5) que hidrolizan fosfatos a pH alcalino (6-8). La ALP se encuentra prácticamente en todos los tejidos del cuerpo, pero aparece en concentraciones elevadas en los osteoblastos de los huesos, hígado, placenta, riñón, pared intestinal y glándulas mamarias de mujeres lactantes. En los adultos, la ALP que está presente normalmente circulando en el suero procede en gran parte del hígado. En niños o adolescentes que experimenten estrones puberales, existe una contribución adicional procedente de los huesos y esta aportación es la responsable del intervalo de referencia más alto para estos grupos. El embarazo provoca igualmente el aumento de los valores normales de ALP.

Con frecuencia se observan niveles elevados de ALP en enfermedades óseas o en enfermedades hepáticas que impliquen al tracto biliar. En el caso de que la fuente de la isoenzima no resulte aparente, la estimación de la GGT puede ayudar a diferenciar entre ambas. Un elevado nivel de GGT en presencia de un elevado nivel de ALP indicará al hígado como fuente principal. En los casos de osteomalacia y raquitismo, hiperparatiroidismo primario con implicación ósea, enfermedad de Paget, carcinoma secundario de hueso y en algunos casos de sarcoma osteogénico se observa un elevado nivel de ALP (y generalmente un nivel normal de GGT). En los casos de colestasis, hepatitis, cirrosis, lesiones que ocupen espacio y neoplasias malignas con implicación ósea o hepática o producción directa se observan niveles elevados de ALP (generalmente con niveles elevados de GGT). Se pueden observar niveles bajos de ALP en los estados que provoquen la detención del desarrollo óseo o en los casos de hipofosfatasia.

METODOLOGÍA

Este método de Fosfatasa Alcalina (ALP) está basado en las recomendaciones de la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC)². Este método utiliza fosfato de 4-nitrofenilo como sustrato. En condiciones optimizadas, la ALP presente en la muestra cataliza la siguiente reacción de transfosforilación.



Al pH de la reacción, el 4-nitrofenóxido presenta un intenso color amarillo. El reactivo contiene asimismo un sistema tampón de iones metálicos con el fin de asegurar el mantenimiento de las concentraciones óptimas de zinc y magnesio. El tampón de iones metálicos también es capaz de quelatar otros iones potencialmente inhibitorios que puedan estar presentes. La reacción se sigue midiendo la velocidad de aumento de la absorbancia a 405 nm que es proporcionar a la actividad de la ALP en el suero.

Abreviaturas

4 NPP = Fosfato de 4-nitrofenilo
 4-NPO = 4-nitrofenóxido
 AMP = 2-amino-2-metil-1-propanol
 ALP = fosfatasa alcalina

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

Ingredientes activos	Concentración
Reactivo 1:	
AMP	446 mmol/L
Acetato de Mg	2,55 mmol/L
ZnSO ₄	1,275 mmol/L
HEDTA	2,55 mmol/L
Reactivo 2:	
4-NPP	81,6 mmol/L

pH 10,75 ± 0,10 a 20°C

AVISO: No ingerir. Evite el contacto con la piel y con los ojos. En caso de contacto, lave abundantemente las áreas afectadas con agua. El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con las tuberías de cobre y de plomo. Añada una gran cantidad de agua antes de verterlo. Para información adicional consulte la Hoja de Datos de Seguridad del reactivo líquido de Fosfatasa Alcalina (ALP) de dos partes.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Los reactivos se suministran listos para su uso.

ESTABILIDAD Y ALMACENAMIENTO

Antes del uso:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

Una vez que se ha abierto el reactivo:

Cuando se almacenan cerrados entre 2 y 8°C, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en las etiquetas del frasco y de la caja del kit.

El reactivo combinado es estable durante al menos 5 días si se almacena a 2-8°C.

Indicaciones del deterioro del reactivo:

- Turbidez,
- Absorbancia del reactivo >1,15 AU a 405 nm (paso de luz de 1 cm); y/o
- Imposibilidad de recuperar los valores de control dentro del intervalo asignado.

TOMA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS²

Suero: Use suero no hemolizado.

Plasma: Utilice heparina. No utilice EDTA, oxalato o fluoruro.

Almacenamiento: La actividad de la ALP en los sueros almacenados aumenta con el tiempo. El aumento de actividad en los sueros almacenados a temperatura ambiente es mínimo durante 4 horas. El aumento de actividad en los sueros almacenados a 2-8°C o de los sueros congelados, durante su calentamiento, es significativo. La velocidad de este aumento depende tanto de la temperatura como del tiempo.

EQUIPOS ADICIONALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Un analizador químico clínico capaz de mantener una temperatura constante (37°C) y de medir la absorbancia a 405 nm.
- Consumibles específicos del analizador, por ejemplo: copas de muestra.
- Material de control de ensayos normales y anormales.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Se recomiendan los siguientes parámetros del sistema. El Grupo de Soporte Técnico suministra aplicaciones de instrumentos individuales tras solicitud.

PARÁMETROS DEL SISTEMA

Temperatura	30/37°C
Longitud de onda primaria	405 nm (405-420 nm)
Longitud de onda secundaria	660 nm (600 - 660 nm)
Tipo de ensayo	Velocidad/cinética
Dirección	Incremento
Muestra: Relación de reactivo	1 : 40 (R1) : 10 (R2)
p.ej. Vol de muestra	5 µL
Vol de reactivo 1	200 µL
Vol de reactivo 2	50 µL
Tiempo de retardo (muestra + R1)	5 minutos
Tiempo de retraso (muestra + R1 + R2)	30 segundos
Tiempo de lectura	2 minutos
Límites del blanco de reactivo	Bajo 0,0 AU
(405 nm, paso de luz de 1 cm)	Alto 1,15 AU
Linealidad	Hasta 2000 U/L
(consulte la sección de Linealidad)	(33,3 µkat/L)
Sensibilidad Analítica	0,37 ΔmA/min por U/L
(405 nm, paso de luz de 1 cm)	(22,2 ΔmA/min por µkat/L)

CÁLCULOS

Los resultados se calculan, en general, de forma automática por el instrumento, como sigue:

Actividad en U/L = $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times \text{Factor}$

$$\text{Factor} = \frac{\text{TV} \times 1000}{18,8 \times \text{SV} \times \text{P}}$$

Donde:

TV = Volumen total de reacción en mL
SV = Volumen de la muestra en mL
18,8 = coeficiente de absorción milimolar del 4-nitrofenol a 405 nm
P = Longitud del paso de la cubeta en cm.

Ejemplo:

$\Delta\text{Abs}/\text{min}$ = 0,038
Factor = 2713
ALP = $0,038 \times 2713 = 103 \text{ U/L}$

NOTAS

- Los volúmenes del reactivo y de la muestra se pueden alterar de forma proporcional para acomodarse a los diferentes requerimientos del espectrómetro.
- La obtención de unos resultados válidos depende de la disposición de unos instrumentos calibrados con precisión, del tiempo del ensayo y del control de la temperatura.
- Conversión de unidades: $\text{U/L} \times 16,67 \times 10^{-3} = \mu\text{kat/L}$.

CALIBRACIÓN

No requerida. La velocidad de reacción se convierte a U/L de actividad por medio de un factor de cálculo. Consulte la sección de calibración de este folleto.

CONTROL DE CALIDAD

Para asegurar un control de calidad adecuado, se deberían introducir controles normales y anormales con valores ensayados como muestras desconocidas:-

- Al menos una vez al día o según lo establecido por el laboratorio.
- Cuando se use una nueva botella de reactivo.
- Después de realizar un mantenimiento preventivo o sustituir un componente crítico.

Los resultados de control que caen por encima del límite superior o del límite inferior del intervalo establecido indican que el ensayo puede estar fuera de control.

En tales situaciones se recomiendan las siguientes acciones correctoras:

- Repetir los mismos controles.
- Si los controles repetidos están fuera de los límites, preparar suero de control fresco y repetir la prueba.
- Si los resultados del material de control fresco aún permanecen fuera de los límites, repita la prueba con reactivo fresco.
- Si los resultados aún están fuera de control, contacte con el Servicio Técnico o con su distribuidor local.


LIMITACIONES

- Se llevaron a cabo estudios para determinar el nivel de interferencia debida a la hemoglobina, bilirrubina y lipemia. Se obtuvieron los siguientes resultados:
Hemoglobina: No se observa interferencia debida a la hemoglobina hasta 790 mg/dL.
Bilirrubina libre: No se observa interferencia debida a la bilirrubina libre hasta 278 $\mu\text{mol/L}$ (16,3 mg/dL).
Bilirrubina conjugada: No se observa interferencia debida a la bilirrubina conjugada hasta 290 $\mu\text{mol/L}$ (17,1 mg/dL).
Lipemia: No se observa interferencia debida a la lipemia, medida como triglicéridos, hasta 22,8 mmol/L (2000 mg/dL).
- Young DS⁵ ha publicado una amplia lista de medicamentos y sustancias que pueden interferir con este ensayo.

VALORES ESPERADOS⁵

A 37°C	4 - 15 Y	Hombres:	54 - 369 U/L	(0,902 - 6,16 $\mu\text{kat/L}$)
		Mujeres:	54 - 369 U/L	(0,902 - 6,16 $\mu\text{kat/L}$)
	20-50 Y	Hombres:	53 - 128 U/L	(0,885 - 2,13 $\mu\text{kat/L}$)
		Mujeres:	42 - 98 U/L	(0,701 - 1,63 $\mu\text{kat/L}$)
	≥60 Y	Hombres:	56 - 119 U/L	(0,935 - 1,98 $\mu\text{kat/L}$)
		Mujeres:	53 - 141 U/L	(0,885 - 2,35 $\mu\text{kat/L}$)

Los valores indicados son representativos del intervalo esperado para este procedimiento y únicamente deberían servir como guía. Se recomienda que cada laboratorio verifique este intervalo o derive un intervalo de referencia para la población que atiende.⁵

 Fisher Diagnostics
a division of Fisher Scientific Company, LLC
a part of Thermo Fisher Scientific Inc.
Middletown, VA 22645-1905 USA
Phone: 800-528-0494
540-869-3200
Fax: 540-869-8132

 MDCI Ltd.
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL UK
840348 (R1)



DATOS DE FUNCIONAMIENTO

Los siguientes datos se obtuvieron usando el reactivo líquido de ALP de dos partes en un analizador químico clínico automatizado con un buen mantenimiento. Los usuarios deberían establecer un comportamiento del producto en su analizador específico usado.

IMPRECISIÓN

La imprecisión se evaluó usando dos niveles de controles comerciales y siguiendo el procedimiento NCCLS EP5-T⁶.

Intra análisis:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	74	319
Media ($\mu\text{kat/L}$)	1,24	5,33
DD (U/L)	0,65	2,02
DD ($\mu\text{kat/L}$)	0,011	0,034
CV (%)	0,9	0,6

Total:	NIVEL I	NIVEL II
Número de puntos de datos	80	80
Media (U/L)	74	319
Media ($\mu\text{kat/L}$)	1,24	5,33
DD (U/L)	2,58	9,34
DD ($\mu\text{kat/L}$)	0,043	0,156
CV (%)	3,5	2,9

COMPARACIÓN DEL MÉTODO

Los estudios de comparación se llevaron a cabo usando un reactivo de ALP disponible comercialmente similar como referencia. Se analizaron las muestras de suero y de plasma (heparina) en paralelo y los resultados se compararon mediante una regresión de cuadrados. Se obtuvieron las siguientes estadísticas:

Número de pares de muestras	60
Intervalo de resultados de las muestras	48 - 225 U/L (0,802 - 3,76 $\mu\text{kat/L}$)
Media de los resultados de los procedimientos de referencia	100 U/L (1,67 $\mu\text{kat/L}$)
Media de los resultados de ALP	105 U/L (1,75 $\mu\text{kat/L}$)
Pendiente	1,03
Ordenada en el origen	-0,33 U/L (-0,006 $\mu\text{kat/L}$)
Coefficiente de correlación	0,9995

LINEALIDAD

Cuando se realiza según las recomendaciones, el ensayo resulta lineal hasta 2000 U/L (33,3 $\mu\text{kat/L}$).

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Cuando se realiza según las recomendaciones, la sensibilidad de este ensayo es de 0,37 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ por U/L (22,2 $\Delta\text{mA}/\text{min}$ por $\mu\text{kat/L}$).

BIBLIOGRAFÍA

- Zilva JF, Pannall PR, "Plasma Enzymes in Diagnosis" in Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd London 1979:Chap 15 343.
- IFCC method for the measurement of ALP J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21:731-48.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. Third Edition 1990: 3: 19-25.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnosis (4th Ed.) Burtis, Ashwood & Bruns (Eds), Elsevier Saunders, 2005; 2290.
- Wachtel M et al, Creation and Verification of Reference Intervals. Laboratory Medicine 1995; 26:593-7.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. NCCLS; 1984, NCCLS Publication EP5-T.

© 2008 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. Hitachi is a registered trademark of Roche Diagnostics, Indianapolis, IN 46250. iLab 600 is a registered trademark of Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

REF

Información de Pedidos

No de Catalogue

	REAG 1	REAG 2
TR11320	1 x 125 mL	1 x 35 mL
TH11301 (Hitachi)	4 x 80 mL	4 x 20 mL
TL11301 (iLab 600)	5 x 80 mL	5 x 20 mL
TY11301 (Hitachi)	4 x 50 mL	4 x 14.5 mL
7500-103A	4 x 500 mL	
7500-203A		2 x 250 mL