

REF 10214-4 4 x 20 mL / 4 mL

FOSFATASA ALCALINA (ALP)

Cada compartimiento contiene una cantidad utilizable de 20 mL de reactivo R1 y 4 mL de reactivo R2.

USO PREVISTO

El reactivo EasyRA ALP se utiliza para la determinación cuantitativa de la fosfatasa alcalina en suero humano y plasma (con heparina de litio como anticoagulante), mediante el "Analizador químico clínico MEDICA EasyRA®". La medición de la fosfatasa alcalina o sus isoenzimas se utiliza para el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades de hígado, hueso, paratiroides e intestinos.

Utilizar únicamente para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional

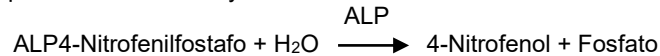
RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La fosfatasa alcalina es un grupo de fosfatasa con un pH óptimo de aproximadamente 10. La fosfatasa alcalina se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos del organismo.¹ La mayoría de los valores de ALP en los adultos normales proviene del hígado o del tracto biliar.² Los niveles normales de ALP dependen de la edad y son elevados en los adolescentes y niños que se encuentran en edad de crecimiento óseo. Los adultos masculinos presentan niveles más altos que los adultos femeninos, excepto las mujeres embarazadas que presentan un nivel elevado debido a la secreción placentaria de ALP.

Valores elevados de ALP aparecen en enfermedades hepatobiliares³ como hepatitis, cirrosis, cáncer y enfermedades óseas en adultos asociadas con un incremento de la actividad osteoblástica, que incluye carcinoma metastásico, raquitismo, enfermedad de Paget y osteomalacia.³ Altos valores de ALP en suero también se encuentran en la enfermedad de Hodgkin, insuficiencia cardíaca congestiva, colitis ulcerativa, enteritis regional e infecciones bacteriales intra-abdominales.⁴

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Este análisis mide la actividad de la ALP en suero a través del método cinético similar al de Bowers y McComb.⁵ La ALP hidroliza los sustratos de 4-nitrofenilfosfato para producir 4-nitrofenol y fosfatos.



El compuesto 4-nitrofenol es amarillo a pH 10,4 con un pico de absorbancia a 405 nm. La tasa de formación de 4-nitrofenol es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina en la muestra.

REACTIVOS

Reactivo buffer ALP (R1):

2-Amino-2-metil-1-propanol,	
pH 10,4	1,1 mol/L
Acetato de magnesio	2,0 mmol/L
Sulfato de zinc	0,5 mmol/L
HEDTA	2,5 mmol/L

Reactivo sustrato ALP (R2):

4-Nitrofenilfosfato	80 mmol/L
---------------------	-----------

PRECAUCIONES

1. Se deben seguir buenas practicas de seguridad en el laboratorio cuando se manipula cualquier reactivo. (CLSI, GP17-A3).
2. Los reactivos contienen menos de 0,1% de azida sódica que puede reaccionar al entrar en contacto con tubos de plomo y cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Consulte la hoja de datos de seguridad para obtener información sobre los riesgos, el peligro y la seguridad.
3. Como en todos los casos de procedimientos de evaluación de diagnóstico, los resultados se deben interpretar teniendo en cuenta todos los otros resultados de las evaluaciones y el estado clínico del paciente.
4. No utilice cubetas lavadas.

INSTRUCCIONES PARA LA MANIPULACIÓN, EL ALMACENAMIENTO Y LA ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

El reactivo está listo para usar. El reactivo que no fue abierto es estable hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta si se almacena a 2° - 8° C.

Destapar el reactivo solo al realizar una prueba. **Mantener el reactivo bien cerrado cuando no esté en uso.** El reactivo es estable una vez cargado en el analizador químico clínico EasyRA por la cantidad de días programados en el chip RFID que se encuentra en el compartimiento del reactivo. No use el reactivo si se encuentra turbio o nebuloso o si no logra obtener valores de control de suero conocidos. Proteja de la luz.

RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA/ESTABILIDAD

Se debe utilizar suero claro y no hemolizado. El ALP permanece relativamente estable en suero o plasma durante 7 días a 2 – 8 °C.⁶ Sin embargo, una vez almacenado, la actividad enzimática aumenta levemente. También se observa un aumento de la actividad de ALP con algunos sueros de control reconstituidos, almacenados a temperatura ambiente y en el refrigerador.⁷

PROCEDIMIENTO

MATERIALES SUMINISTRADOS

Compartimiento de reactivo ALP (Medica ALP Reagent Wedge), REF 10214-4

Materiales adicionales necesarios

Medica EasyQC® Chemistry – Nivel A, REF 10793

Medica EasyQC® Chemistry – Nivel B, REF 10794

Método de diagnóstico Dye Test – Medica Precision Test Dye Wedge, REF 10764

Medica Cleaner Wedge – Chemistry & ISE, REF 10660 o

Medica Cleaner Wedge – Chemistry, REF 10661

Instrucciones de uso

El reactivo está listo para usar. Retire la tapa del reactivo y colóquelo en la bandeja para el reactivo del analizador químico clínico EasyRA ubicada en la zona de los reactivos. Una vez en el compartimiento, la estabilidad del reactivo (máximo 8 días) se programa en el chip RFID del compartimiento de reactivos.

Nota: verifique que no haya espuma en la parte interna del cuello del compartimiento después de retirar las tapas y colocar el compartimiento en el analizador químico clínico EasyRA. Si encuentra espuma, retírela con un hisopo o una pipeta desechable antes de realizar el análisis. Utilice diferentes hisopos o pipetas desechables para los R1 y R2.

Calibración

No corresponde.

Control de calidad

Se recomienda llevar a cabo dos niveles de control del suero humano (normal y anormal) en el ensayo diariamente siempre que se realicen análisis de pacientes y con cada cambio de lote del reactivo. Si en el ensayo del material de control no se obtienen los rangos de valores correctos, esto es indicador de deterioro del reactivo, un mal funcionamiento del instrumento o errores de procedimiento. Cuando se utilizan materiales de control de calidad, el laboratorio también debe cumplir con las normas de control de calidad locales, estatales y federales.

Resultados

Al finalizar el ensayo, el analizador químico clínico EasyRA calcula la concentración de ALP a partir de la variación de absorbancia por minuto, el volumen de la muestra, el volumen de reacción total, la longitud de trayectoria (cm) de 0,6 y la absorptividad molar de 18,75.

$$\text{ALP (U/L)} = (\Delta A/\text{Min}) \times \frac{(\text{Volumen Total } (\mu\text{L}) \times 1000)}{(\text{Absorptividad Molar} \times \text{Pasode Luz (cm.)} \times \text{Volumen de la Muestra } (\mu\text{L}))}$$

VALORES ESPERADOS¹

El rango de referencia para la ALP en suero es el siguiente:

Adulto: 34 - 114 U/L (37 °C)

Se sugieren estos valores solamente como referencia. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores debido a las diferencias que existen entre los instrumentos, los laboratorios y la población local.

Limitaciones en los procedimientos (por ejemplo: si la muestra está por encima del rango del ensayo)

El análisis de ALP es lineal hasta 800 U/L. Si la variación de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{Min}$) es superior a 0,1915, el resultado marcará "SD" (depleción de sustrato). Las variaciones de absorbancia por minuto superiores a este valor están por encima del rango lineal del análisis. Si el operador lo programa, se puede volver a analizar la muestra usando un volumen de muestra menor. Los resultados de los análisis repetidos se calculan para que reflejen el uso de un volumen inferior de muestra. Esto aumentará el rango a reportar del análisis de ALP a 1600 U/L.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO⁸

Rango a reportar

El rango a reportar es de 10 hasta 800 U/L. El rango extendido es de 10 hasta 1600 U/L cuando se utiliza la mitad de la muestra (dilución 1:1).

Inexactitud/Correlación (CLSI, EP09-A2)

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación sobre el rendimiento del reactivo Medica para ALP (y) en el analizador químico clínico EasyRA utilizando una longitud de onda primaria de 405 nm solamente con el rendimiento del mismo reactivo ALP (x) en el analizador químico clínico EasyRA utilizando una longitud de onda primaria de 405 nm y una longitud de onda secundaria de 700 nm. Los datos que se muestran a continuación representan determinaciones únicas obtenidas utilizando una longitud de onda primaria y una longitud de onda secundaria en el analizador químico clínico EasyRA versus el promedio de dos valores replicados obtenidos utilizando una longitud de onda primaria en el analizador químico clínico EasyRA.

Número de muestras	47	Rango de muestras	17 hasta 744 U/L
Pendiente	0,9938	Intercepto con y	3,6906
Coefficiente de correlación	0,9998	Ecuación de regresión	$Y = 0,9938 * X + 3,6906$

La tabla a continuación detalla los datos obtenidos en una comparación de las muestras emparejadas de suero (x) y de plasma (y) heparinizados con litio, en las que se utilizó el reactivo Medica para fosfatasa alcalina en el analizador químico clínico EasyRA. Los datos que se muestran a continuación representan una determinación de plasma única en comparación con el promedio de dos valores de suero replicados.

Número de muestras	74	Rango de muestras	13 hasta 764 U/L
Pendiente	1,0284	Intercepto con y	-6,4285
Coefficiente de correlación	0,9902	Ecuación de regresión	$Y = 1,0284 * X - 6,4285$

NOTA: Los resultados de ALP para plasma pueden ser un 5% o un 6% inferiores a los resultados de ALP para suero.⁹ Medica recomienda que los laboratorios clínicos establezcan sus propios rangos de referencia para el análisis de ALP en función del tipo de muestra.

Imprecisión (CLSI, EP05-A2).

Las medidas duplicadas de cada uno de los tres niveles del material de control de calidad se analizaron dos veces al día durante 20 días. Ambas ejecuciones de precisión están dentro de y la precisión total fue determinada de estos datos.

Dentro de la imprecisión corriente:

Nivel del control de calidad U/L	Dentro de la actual depleción de sustrato U/L	Dentro del CV %
295	2,8	1,0
184	2,1	1,2
73	1,3	1,7

Imprecisión total:

Nivel del control de calidad U/L	Imprecisión total de depleción de sustrato U/L	Imprecisión total del CV %
295	6,2	2,1
184	4,4	2,4
73	2,1	2,9

Linealidad (CLSI, EP06)

Lineal desde 10 a 800 U/L, con base en la regresión lineal $Y = 0,9845 * X + 3,3253$

Límite del blanco (LOB):	3,0 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de detección (LOD):	4,5 U/L	(CLSI, EP17-A)
Límite de cuantificación (LOQ):	9,1 U/L	(CLSI, EP17-A)

Sustancias de interferencia (CLSI, EP07)

Menos del 10% de interferencia fue clasificado como "interferencia no significativa".

Existe una interferencia significativa a niveles de hemoglobina sobre 500 mg/dL. Evitar el uso de muestras de suero hemolizado.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 20 mg/dL de bilirrubina.

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 500 mg/dL de triglicéridos (uso de Intralipid*).

No se encontraron interferencias significativas en niveles de hasta 30 mg/dL de ácido ascórbico.

*Intralipid es una marca registrada de Pharmacia AB, Clayton, NC.

Young provee una lista de drogas y otras sustancias que interfieren con los análisis de química clínica.^{10, 11}

REFERENCIAS

- 1 Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. WB Saunders and Co., Philadelphia, PA, p. 831-832 (1994).
- 2 Kaplan MM, Righetti A. *J Clin Inv.* 1955; 34:126.
- 3 Searcy, RL. *Diagnostic Biochemistry*. New York, NY: McGraw-Hill; 1969.
- 4 Kaplan MM. *New Engl J Med.* 1972;286:200.
- 5 Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B.: *A continuous spectrophotometric method for measuring the activity of serum alk. phos.* *Clin Chem* 12:70-89, 1966.
- 6 Gunder WG, Zawata B et al. *The Quality of Diagnostic Samples*. 3rd Edition: 2010. p. 32-3.
- 7 Massion, C.G., Grankenfeld, J.K.: *Alkaline phosphatase: Liability in fresh and frozen human serum and in lyophilized control material.* *Clin Chem.* 18: 366, 1972.
- 8 Datos de los archivos de Medica.
- 9 Ciuti R., Rinaldi G. *Serum and Plasma Compared for Use in 19 Common Chemical Tests Performed in the Hitachi 737 analyzer,* *Clin. Chem.* 35:1562(1989).
- 10 Young, DS., Pestaner, L.C., Gibberman, V.; Effects of drugs on clinical laboratory tests. *Clin Chem* 21: 246D, 1975.
- 11 Young DS. Young's Effects on-line. *Effects of Drugs, Physiology, Preanalytical variables and herbs on Clinical Laboratory Tests.* AACC www.fxol.org

PARÁMETROS DEL ENSAYO (ALP) EASYRA

Longitud de onda primaria (nm)	405
Longitud de onda secundaria (nm)	700
Tipo de reacción	Enzima (0)
Dirección de la reacción	Aumento
Blanco del reactivo	No
Blanco de la muestra	No
Variación máxima del primer intervalo de absorbancia	0,075
Tiempo de reacción	7,6 min
Estabilidad integrada del reactivo	8 días

Suero/plasma

Volumen de la muestra (µl)	6,0
Volumen del diluyente 1 (µl)	20
Volumen del diluyente 2 (µl)	20
Volumen del reactivo R1 (µl)	200
Volumen del reactivo R2 (µl)	36
Puntos decimales (valores predeterminados)	0
Unidades (valores predeterminados)	U/L
Factor de dilución	1:1 (para extender el rango de medición)
Linealidad	10 hasta 800 U/L