



valtek

diagnostics

FOSFATASA ALCALINA (IFCC)

Reactivo líquido para la determinación de la enzima

Fosfatas Alcalina en suero a 37°C. según IFCC.

Para uso en el diagnóstico *in Vitro*. Apto para usar en autoanalizador.

SIGNIFICANCIA CLINICA

La enzima fosfatasa alcalina se encuentra concentrada en el hígado, hueso, placenta, intestino, y algunos tumores. En los niños y durante el embarazo se encuentra en concentraciones más altas debido a los procesos de crecimiento óseo y por acción placentaria, respectivamente. Esta enzima se encuentra elevada en enfermedades tales como la hepatitis, enfermedades óseas, entre otras.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Test cinético y fotométrico de acuerdo a IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine),

La fosfatasa alcalina cataliza la hidrólisis del p-Nitrofenilfosfato a p-Nitrofenol y fosfato, produciéndose un aumento de absorbancia a 405 nm. proporcional a la concentración de enzima en la muestra.



REACTIVOS

Conservados entre 2° y 8°C. y protegidos de la luz, estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Nota: el reactivo 2 es sensible a la temperatura, después de usarlo refrigérelolo lo más pronto posible.

Composición del Reactivo de Trabajo (en Buffer AMP pH 10,45):

Mg2+	≥1.0 mM
p-Nitrofenilfosfato	≤16 mM
Activadores y preservantes no reactivos	c.s.

Preparación del Reactivo de Trabajo:

Mezclar 10 mL. de Reactivo 1 con 2 mL. de Reactivo 2 o preparar el volumen requerido manteniendo la proporción. Protéjase este reactivo de la luz directa y de la contaminación microbiana. Se debe conservar tapado cuando no están en uso.

Descartar el reactivo si su absorbancia es mayor de 1.0 a 405 nm. contra blanco de agua.

MUESTRA

Utilizar suero libre de hemólisis. No utilizar plasma, algunos anticoagulantes inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina (8). La fosfatasa alcalina es estable 2 días entre 2° y 8°C.

MATERIAL NECESARIO NO INCLUIDO

Espectrofotómetro manual o automático o fotocolorímetro de filtros con cubeta termoestable, capaz de medir absorbancia a 405 nm, baño termoregulado, cronómetro, pipetas, calibrador y sueros controles.

TECNICA

Llevar el reactivo a la temperatura de reacción (37°C.) por 5 minutos y poner el espectrofotómetro en cero contra blanco de agua destilada.

Reactivo de trabajo	(mL)	1.00
Volumen de muestra	(mL)	0.025
Mezclar y transferir a la cubeta del espectrofotómetro. Incubar 60 segundos a la temperatura de reacción. Leer la absorbancia inicial (A1) a 405 nm. Repetir la lectura a los 60 segundos, exactos, por 2 minutos.		

Adaptaciones para la aplicación de este reactivo en autoanalizadores están disponibles a solicitud. Es responsabilidad del laboratorio validar esta aplicación. Los reactivos deben permanecer cerrados cuando no están en uso.

CALIBRACION

- En la calibración se recomienda utilizar calibrador sérico VALTROL-C (código 210-130), proceder de igual forma que con las muestras.
- Se recomienda recalibrar en cualquier momento que se evidencie alguno de estos acontecimientos:
 - El lote de reactivo cambia
 - Se realiza un mantenimiento preventivo del equipo
 - Los valores de control han cambiado o se encuentran fuera de escala.

CALCULOS

Factor = $\frac{\text{Concentración Calibrador}}{\Delta A/\text{min. Calibrador}}$
Actividad PAL (UI/L) = Factor x Abs. Muestra

O bien se puede utilizar el siguiente factor:

$$\text{Actividad PAL (UI/L)} = \Delta A/\text{min} \times 2187$$

$$\text{Factor} = \frac{V_t \times 1000}{\sum_{\text{PNP}} \times P \times V_m} = 2187$$

V_t= Volumen total de reacción
 \sum_{PNP} = Coef. de extinción milimolar del p-NPP a 405 nm.
 P= Espesor del paso de luz en la cubeta
 V_m= Volumen de muestra utilizado

CONTROL DE CALIDAD

- Es conveniente analizar junto con las muestras sueros controles valorados para Fosfatasa Alcalina por este método. Se recomienda la utilización de los sueros controles VALTROL-N (código 210-100) y VALTROL-P (código 210-110).
- Si los valores obtenidos para los controles se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, el reactivo y el calibrador.
- Cada laboratorio debe disponer de su propio Control de Calidad y establecer las correcciones necesarias en caso de que no se cumpla con las tolerancias permitidas para los controles.

ADVERTENCIAS Y MEDIDAS DE PRECAUCION:

- Mantener los reactivos cerrados cuando no están en uso aumenta la estabilidad de la calibración.
- Los volúmenes indicados pueden ser alterados proporcionalmente sin alterar los resultados.
- Los rangos normales deben informarse de acuerdo a la temperatura a la cual se realiza el ensayo.
- El R2 es muy sensible a la temperatura y podría afectarse por exposiciones prolongadas a temperatura ambiente. Refrigerar inmediatamente después de su uso.
- Consultar en nuestra página WEB la ficha de seguridad de este reactivo y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación y eliminación de residuos.
- En autoanalizadores debe utilizarse contenedores de reactivos nuevos.
- Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
- El Hipoclorito de Sodio a una concentración ≥ 10 mg/dl tiene un fuerte efecto interferente sobre la estabilidad del reactivo, por lo que todo el material utilizado debe estar LIBRE de residuos de Hipoclorito para garantizar el resultado obtenido.

ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO:

-Linealidad: 1 - 1000 U/L.

Para valores superiores 1000 U/L, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

-Límite de detección: 1 U/L.

-Interferencias: Hemoglobina sobre 0.5 gr/dL, bilirrubina sobre 20 mg/dL y la lipemia (triglicéridos sobre 1000 mg/dL) podrían interferir en la técnica. Otros medicamentos y sustancias podrían interferir (8).

-Exactitud: Los reactivos VALTEK no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.

-Repetibilidad intraserie: n = 20

Media (U/L)	C.V.
94	2.1%
319	1.3%

-Reproducibilidad interserie: n = 20

Media (U/L)	C.V.
95	1.3%
315	1.2%

Estos datos han sido obtenidos utilizando un autoanalizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o al realizar el procedimiento manualmente.

-Certificado de Conformidad disponible a solicitud

RANGOS DE REFERENCIA

Cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia en función de la población de pacientes. Los rangos de referencia que se enumeran a continuación están tomados de la bibliografía existente.

ADULTOS (6)

	Sexo femenino U/L	Sexo masculino U/L
20 – 50 años	42 - 98	53 - 128
> 60 años	53 - 141	56 - 119

NIÑOS (7)

	Sexo femenino U/L	Sexo masculino U/L
1 – 30 días	48 - 406	75 - 316
1 mes – 1 año	124 - 341	82 - 383
1 – 3 años	108 - 317	104 - 345
4 – 6 años	96 - 297	93 - 309
7 – 9 años	69 - 325	86 - 315
10 – 12 años	51 - 332	42 - 362
13 – 15 años	50 - 162	74 - 390
16 – 18 años	47 - 119	52 - 171

PRESENTACIONES DISPONIBLES

CODIGO	CONTENIDO	
300120	Reactivo 1	4 x 40 mL
	Reactivo 2	2 x 16 mL
200120	Reactivo 1	4 x 40 mL
	Reactivo 2	2 x 16 mL

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Henry, R.J., Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publishers. New York, 1964.
- 2.- Moss DW. International and national views on methods for alkaline phosphatase activity measurement in the clinical laboratory. Proceeding of the Second International Symposium on Clinical Chemistry, Washington, DC 1976; 41 – 50.
- 3.- McComb R.B. Fundamentals of the chemistry of alkaline phosphatase and their relation in the measurement of alkaline phosphatase activity in the laboratory. Proceeding of the Second International Symposium on Clinical Chemistry, Washington, DC 1976; 27 – 40.
- 4.- Tietz NW, Rinker D., Shaw LM. IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 5: IFCC method for alkaline phosphatase. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1983; 21:731 – 748.
- 5.- R.Rueda, R. Lòpez, A. Galàn, F. Canalias, F. Barragan, F.J. Gella. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en suero sanguíneo humano. Quimica Clinica 1992; 11 (3) 176 – 180-
- 6.- Burtis CA, Ahswood ER, editores. Tietz textbook of clinical chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W. B. Saunders Company, 1999. p. 1829.
- 7.- Soldin JS, Brugnara C., Wong CE, In: MJ Hicks, editor, Pediatric reference intervals. 6ª ed. Washington: AACC Press, 2007. p.11.
- 8.- Young D.S. et al, Clin. Chem. 21:1D(19975)

REV N° 3