

Uso previsto

Para la determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina en suero humano, utilizando los analizadores Yumizen C230 y Yumizen C240. Sólo para diagnóstico *in vitro*. **Rx only.**

Importancia clínica

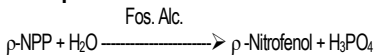
Las estimaciones de fosfatasa alcalina sérica son de interés en el diagnóstico de dos grupos de afecciones: enfermedad hepatobiliar y enfermedad ósea asociada con aumento de la actividad osteoblástica.¹

Resumen de la prueba

La fosfatasa alcalina en suero se determina, midiendo la tasa de hidrólisis de varios ésteres de fosfato en condiciones específicas. El fosfato de *p*-nitrofenilo es uno de esos ésteres de fosfato y Fujita lo introdujo como sustrato en 1939.²

En 1946, Bessey, Lowry y Brock publicaron un procedimiento de punto final³, mientras que Bowers y McComb publicaron un procedimiento cinético en 1966.⁴ El procedimiento cinético ha sufrido varias modificaciones y se ha recomendado para análisis rutinarios.^{5,6} Este reactivo líquido se basa en el método recomendado por la AACC.⁷

Principio



El fosfato de *p*-nitrofenilo se hidroliza a *p*-nitrofenol y fosfato inorgánico. La velocidad a la que se hidroliza la *p*-NPP, medida a 405 nm, es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina.

Composición del reactivo

Después de combinar R1 y R2 según las instrucciones, el reactivo contiene: Disolución amortiguadora AMP (pH 10,45), *p*-NPP ≤16 mM, iones de magnesio ≥1,0 mM, activadores y conservantes.

Preparación de los reactivos

Los reactivos se suministran listos para usar.

Estabilidad y almacenamiento de los reactivos

Guardé el conjunto de reactivos a una temperatura de 2-8°C. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad si se almacenan según las instrucciones. Proteger de la luz directa y evitar la contaminación microbiana. **NOTA:** El reactivo R2 es sensible a la temperatura y puede verse afectado por una exposición prolongada a la temperatura ambiente. Deje que el reactivo vuelva a alcanzar una temperatura de 2-8°C tan pronto como sea posible después de su uso.

Precauciones

- Este conjunto de reactivos está indicado exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
- No ingiera ningún material, la toxicidad no se ha determinado.
- No lo utilice si la absorbancia inicial del reactivo de trabajo es superior a 1,0 a 405 nm o si el reactivo no cumple con los parámetros de rendimiento establecidos.
- El reactivo no debe usarse si no logra recuperar los valores establecidos en los sueros de control o si muestra evidencia de contaminación microbiana.
- Todas las muestras y controles deben manipularse de conformidad con las buenas prácticas de laboratorio, usando las precauciones apropiadas como se describe en el Manual del CDC/NIH, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 2.^a ed., 1988, Publicación del HHS n.º (CDC) 88-8395.

Extracción y almacenamiento de muestras

- Utilice suero no hemolizado (no se debe utilizar plasma, ya que los agentes anticoagulantes inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina).^{8,9}
- Las muestras de suero deben almacenarse a una temperatura de 2-8°C y analizarse en dos días.¹⁰
- La extracción de muestras debe llevarse a cabo de conformidad con NCCLS M29-T2.¹¹ Ningún método puede ofrecer una garantía total de que las muestras de sangre humana no transmitan infecciones. Por tanto, todas las muestras de sangre deben considerarse potencialmente infecciosas.

Interferencias

- Young, et al⁶ proporcionan una lista de fármacos y otras sustancias que interfieren con la determinación de la actividad de ALP.

- El método no se ve afectado (< 10%) por valores de hemoglobina de hasta 500 mg/dL, niveles de bilirrubina hasta 20 mg/dL y lipemia/Triglicéridos (se utiliza Intralipido para simular) hasta 1000 mg/dL. Los estudios se realizaron en el analizador Hitachi 717™, siguiendo una modificación de las pautas del documento NCCLS EP7-P.¹²

Materiales suministrados

Reactivo R1 de Fosfatasa alcalina
Reactivo R2 de Fosfatasa alcalina

Materiales necesarios, pero no suministrados

- Analizador Yumizen C230 / Yumizen C240
- Manual de instrucciones de Yumizen C230 / Yumizen C240
- Control químico, número de catálogo C7592-100

Parámetros de prueba

Test:	FOS ALK.	Química: Fosfatasa alk.
Nº. de química 201	Imprimir nombre:	Fosfatasa alk.
Tipo de reacción:	Cinética	Dirección de reacción: Positivo
Onda Pri.:	405 nm	Onda Sec. 670 nm
Decimal.:	0	Muestra Tipo: Suero
Tiempo de blanco:		Tiempo de reacción: 3 11
Unidad:	U/L	Tiempo de incubación: 3

	Vol. de muestra	Aspirado	Diluyente	Vol. de reactivo	Diluyente
Estándar;	4.5	uL	uL	R1: 180	uL uL
Reducido;		uL	uL	R2: 45	uL uL
Aumentado;		uL	uL		

Rango de linealidad (Estándar): 0-1000	Limite de linealidad: 0.3
Rango de linealidad (Reducido):	Agotamiento del sustrato: 25000
Rango de linealidad (aumentado):	Abs. de blanco mezclado: -40000 40000
Abs. de blanco de R1: -40000 40000	Estabilidad en el equipo: 30 Día(s)
Respuesta de blanco -40000 40000	Limite de alarma del reactivo: 5
Química idéntica:	

Comprobación de prozona:		
Q1:	Q2:	Q3:
Q4:	PC:	ABS:

Usar resultado cualitativo:	
Rango:	Aviso:

Compensación de pendiente:		
Pendiente	Compensación	Unidad
1	0	U/L

Pretratamiento:	
Vol. de muestra de pretratamiento:	Vol. de reactivo de pretratamiento:
uL	uL

Rango de ref.:					
Tipo de muestra:	Género:	Rango de edad:	Rango de ref.:	Rango crítico:	Unidad:

Parámetros de configuración de calibración

Quím:	Fos. Alc.
Config. calibración	
Modelo mat: Factor K	
Factor: 2276,000	Réplicas: 2
Limites de aceptación	
Tiempo Cal: 24 hr.	
Dif. Pendiente:	SD:
Sensibilidad:	Repetibilidad:
	* Definido por el usuario
Coef. Deter:	
Auto Calib.	
<input type="checkbox"/> Tiempo Cal	

Conjunto de reactivos de fosfatasa alcalina Pointe

Limitaciones

- Esta metodología mide la fosfatasa alcalina total independientemente del tejido u órgano de origen. Es posible que se necesiten más pruebas para ayudar en el diagnóstico diferencial.
- Las muestras con valores superiores a 1000 IU/L deben diluirse con un volumen igual de solución salina y volver a analizarse, multiplicando los resultados por dos.

Calibración

El procedimiento se estandariza mediante la absorbividad milimolar del p-nitrofenol (18,75 a 405 nm) en las condiciones especificadas. Los resultados se basan en el cambio de absorbancia por unidad de tiempo; todos los parámetros deben ser conocidos y estar controlados.

Cálculos (Ejemplo)

Una Unidad internacional (IU/L) se define como la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto en condiciones específicas.

$$(IU/L) = \frac{\Delta Abs./Min. \times 1000 \times 1,025}{18,75 \times 1 \times 0,025} = \Delta Abs./min. \times 2187$$

Donde $\Delta Abs./Min.$ = Cambio de absorbancia promedio por minuto
 1000 = Conversión de UI/mL a IU/L
 1,025 = Volumen total de reacción (mL)
 18,75 = Absorción milimolar de p-nitrofenol
 .025 = Volumen de muestra (mL)
 1 = Paso de luz en cm

Ejemplo: Si su $\Delta Abs./min.$ = 0,06
 Entonces $0,06 \times 2187 = 131 IU/L$

NOTA: Si se modifican los parámetros de la prueba, el factor debe volver a calcularse, utilizando la fórmula anterior.

Unidades SI: Para convertir a unidades SI (nkat/L) multiplique IU/L por 16,67.

Control de calidad

La validez de la reacción debe supervisarse, utilizando sueros de control con actividades de ALP normales y anormales conocidas y debe realizarse con cada turno de trabajo en el que se realicen ensayos de ALP. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propia frecuencia de determinación de control. Los requisitos de control de calidad deben realizarse de conformidad con la normativa local, estatal y/o nacional o con los requisitos de acreditación.

Valores esperados

Adultos 35-123 IU/L a 37°C. Este rango de referencia se basa en un estudio realizado por el fabricante, utilizando muestras de 783 adultos aparentemente sanos. Los niños tienen un valor normal más alto. Se recomienda encarecidamente que cada laboratorio establezca su propio rango normal.

Características específicas de rendimiento Datos generados en los analizadores de la serie Yumizen 200.

Rango de ensayo: 0-1000 IU/L

Exactitud: Los estudios que compararon el método de reactivo de fosfatasa alcalina líquida utilizado en los analizadores de la serie Yumizen 200 y un analizador similar dieron los siguientes resultados:

Método	Fosfatasa alcalina
N	59
Fosfatasa alcalina media IU/L	198
Rango IU/L	0-927
Desviación estándar IU/L	251
Análisis de regresión	$Y=1,077x - 8,9$
Coefficiente de correlación	0,993

Precisión:

La precisión intraserial para el reactivo líquido de fosfatasa alcalina se determinó, siguiendo una modificación del documento NCCLS EP5-T2¹⁷ utilizando los analizadores de la serie Yumizen 200. Los estudios de precisión intraserial mostraron los siguientes resultados:

Muestra	BAJO	ALTO
N	20	20
Fosfatasa alcalina media IU/L	61	171
Desviación estándar IU/L	2,5	2,6
Coefficiente de variación (%)	4,1	1,5

La precisión día a día también se determinó, siguiendo una modificación del documento EP5-T2¹⁷ del NCCLS. Los estudios de precisión día a día realizados en los analizadores de la serie Yumizen 200 determinaron los siguientes resultados:










Muestra	BAJO	ALTO
N	80	80
Fosfatasa alcalina media IU/L	81	204
Desviación estándar IU/L	2,6	4,1
Coefficiente de variación (%)	3,3	2,0

Sensibilidad: Límite de detección 2SD (95% Conf) = 0,828 IU/L


Referencias

- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders co., p 603 (1982).
- Fujita, H., J. Biochem. (Japan) 30:69 (1969).
- Bessey, O.A., Lowry, O.H., Brock, M.J., J. Biol. Chem. 164:321 (1964).
- Bowers, G.N., Jr., McComb, R.B., Clin. Chem. 12:70 (1966).
- The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Scand. J. Clin. Lab. Invest 32:291 (1974).
- Wilkinson, J.H., et al, Clin. Chem. 15:487 (1969).
- Tietz, N.W., et al, Clin. Chem. 29:751 (1983).
- Young, D.S., et al, Clin. Chem. 21:1D (1975).
- Demetriou, J.A., Drewes, P.A., Gin, J.B., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 2nd Ed., Hagerstown (MD), Harper & Row, p. 927 (1974).
- Rej., R., Clin. Chem. 23:1903 (1977).
- NCCLS document "Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue", 2nd Ed. (1991).
- NCCLS document "Interference testing in Clinical Chemistry", 2nd Ed. (1992).
- NCCLS document "Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices", 2nd Ed. (1992).

Clave de símbolo

 Usar antes de (AAAA-MM-DD)	 LOT Lote y código de lote
 REF Número de catálogo	 Fabricante
 IVD Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limitación de temperatura
 Consultar instrucciones de uso	Rx Only: Venta exclusiva con receta médica
 Marca CE	 EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

 REF 12-A7516-100	 Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated - Pointe Brand 5449 Research Drive Canton, MI 48188		
---	---	---	---

Fabricado por HORIBA Instruments Incorporated – Pointe Brand 5449 Research Drive, Canton, MI 48188		
Representante Europeo Autorizado: Obelis s.a. Boulevard Général Wahis 53 1030 Brussels, BÉLGICA Tel.: (+32)2.732.59.54 Fax: (+32)2.732.60.03 email: mail@obelis.net		

Certificado para emplear reactivos

Los reactivos Pointe están certificados para ser fabricados de acuerdo con los parámetros especificados. Cualquier producto de reactivo Pointe que no cumpla con las especificaciones hasta la fecha de vencimiento indicada se reparará de inmediato sin cargo.

Rev. 11/23 P803-A7516-MIN-ES