

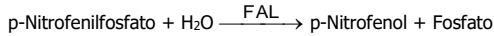
ALP MonlabTest®



DGKC. p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido

**Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (ALP/FAL)**Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C**PRINCIPIO DEL MÉTODO**

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:

La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada^{1,2}.**SIGNIFICADO CLÍNICO**

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta su presencia en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón.

Tiene importancia clínica tanto su aumento como su disminución de los niveles en plasma.

Causas más probables de aumento del nivel de FAL:

Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia.

Causas más probables de disminución del nivel de FAL:

Cretinismo y déficit de vitamina C^{3,5,6}.

El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

REACTIVOS

R1 Tampón	Dietanolamina (DEA) pH 10,4 Cloruro de magnesio	1 mmol/L 0,5 mmol/L
R2 Substrato	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L

PRECAUCIONESR1: H315- Contiene Dietanolamina (HN(CH₂CH₂OH)₂). Provoca irritación cutánea. H318- Provoca lesiones oculares graves. H373- Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas. Seguir los consejos de prudencia indicados en la FDS y etiqueta del producto.**PREPARACIÓN**

Reactivo de trabajo (RT):

Mezclar: 4 vol. (R1) Tampón + 1 vol. de (R2) Substrato.

Estabilidad: 1 mes a 2-8°C o 10 días a temperatura ambiente (15-25°C).

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, protegidos de la luz y se evita su contaminación. No usar reactivos fuera de la fecha indicada.

Indicadores de deterioro de los reactivos:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco a 405 \geq 1,50.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectrofotómetro o analizador para lecturas a 405 nm.
- Baño termostático a 25°C, 30°C o 37°C (\pm 0,1°C).
- Cubetas de 1,0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRASSuero o plasma heparinizado¹. Usar suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

PROCEDIMIENTO

- Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda:..... 405 nm
 - Cubeta:.....1 cm paso de luz
 - Temperatura constante:25°C / 30°C / 37°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
- Pipetear en una cubeta:

RT (mL)	1,2
Muestra (μ L)	20

- Mezclar, incubar 1 minuto.
- Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el promedio de la diferencia de absorbancia por minuto (ΔA /min).

CÁLCULOS ΔA /min x 3300 = U/L de FAL**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1 μ mol de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).**Factores de conversión de temperaturas**

Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

CONTROL Normal y Patológico (MO-165107 y MO-165108).

Si los valores hallados se encuentran fuera del rango de tolerancia, se debe revisar el instrumento, los reactivos y la técnica.

Cada laboratorio debe disponer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias.

VALORES DE REFERENCIA¹

	25°C	30°C	37°C
Niños (1-14 años)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adultos	60 -170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factores que pueden afectar los valores de referencia son: ejercicio, periodos de crecimiento en niños y embarazo.

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO**Rango de medida:** Desde el límite de detección 0,6845 U/L hasta el límite de linealidad de 1200 U/L.

Si la concentración de la muestra es superior al límite de linealidad, diluir 1/10 con NaCl 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

Precisión:

	Intraserie (n= 20)		Interserie (n= 20)	
Media (U/L)	174	443	175	434
SD	0,72	1,56	6,88	11,93
CV (%)	0,41	0,35	3,93	2,75

Sensibilidad analítica: 1 U/L = 0,0003 ΔA /min.**Exactitud:** Los reactivos MonlabTest (y) no muestran diferencias sistemáticas significativas cuando se comparan con otros reactivos comerciales (x).

Los resultados obtenidos con 50 muestras fueron los siguientes:

Coeficiente de regresión (r)²: 0,99938.

Ecuación de la recta de regresión: y = 1,025x – 1,105.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

El fluoruro, oxalato, citrato y EDTA inhiben la actividad de la fosfatasa alcalina, por lo que no deben ser utilizados como anticoagulantes.

La hemólisis interfiere debido a la elevada concentración de fosfatasa alcalina en los hematíes^{1,2}. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina^{3,4}.**NOTAS****MONLAB dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.****BIBLIOGRAFÍA**

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTACIÓN

MO-165065	MO-165066	MO-165217
R1: 1 x 60 mL	R1: 1 x 240 mL	R1: 4 x 100 mL
R2: 1 x 15 mL	R2: 1 x 60 mL	R2: 1 x 100 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad

ALP MonlabTest®



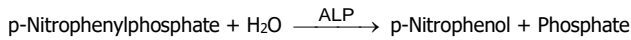
DGKC. p-Nitrophenylphosphate. Kinetic. Liquid.

Quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 2-8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Alkaline phosphatase (ALP) catalyses the hydrolysis of p-nitrophenyl phosphate at pH 10.4, liberating p-nitrophenol and phosphate, according to the following reaction:



The rate of p-nitrophenol formation, measured photometrically, is proportional to the catalytic concentration of alkaline phosphatase present in the sample^{1,2}.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Alkaline phosphatase is an enzyme present in almost all weaves of the organism, being particularly high in bone, liver, placenta, intestine and kidney. Both increases and decreases of plasma ALP are of importance clinically. Causes of increased plasma ALP: Paget's disease of bone, obstructive liver disease, hepatitis, hepatotoxicity caused by drugs or osteomalacia. Causes of decreased plasma ALP: Cretinism and vitamin C deficiency^{1,5,6}. Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

REAGENTS

R1 Buffer	Diethanolamine (DEA) pH 10.4 Magnesium chloride	1 mmol/L 0.5 mmol/L
R2 Substrate	p-Nitrophenylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

PRECAUTIONS

R1: H315- Contains Diethanolamine (HN(CH₂CH₂OH)₂). Causes skin irritation. H318- Causes serious eye damage. H373- May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure. Follow the precautionary statements given in MSDS and label of the product.

PREPARATION

Working reagent (WR)
Mix: 4 vol. (R1) Buffer + 1 vol. (R2) Substrate
Stability: 1 month at 2-8°C or 10 days at room temperature (15-25°C).

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C, protected from light and contaminations prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date. **Signs of reagent deterioration:**
- Presence of particles and turbidity.
- Blank absorbance (A) at 405 nm \geq 1.50.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Spectrophotometer or colorimeter measuring at 405 nm.
- Thermostatic bath at 25°C, 30°C or 37°C (\pm 0.1°C)
- Matched cuvettes 1.0 cm light path.
- General laboratory equipment.

SAMPLES

Serum or heparinized plasma¹. Use unhemolyzed serum, separated from the clot as soon as possible. Stability: 3 days at 2-8°C.

PROCEDURE

- Assay conditions:
Wavelength:405 nm
Cuvette: 1 cm light path
Constant temperature:.....25°C / 30°C / 37°C
- Adjust the instrument to zero with distilled water or air.
- Pipette into a cuvette:

WR (mL)	1.2
Sample (μ L)	20
- Mix, incubate for 1 minute.
- Read initial absorbance (A) of the sample, start the stopwatch and read absorbances at 1 min intervals thereafter for 3 min.
- Calculate the difference between absorbances and the average absorbance differences per minute (ΔA /min).

CALCULATIONS

$$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L of ALP}$$

Units: One international unit (IU) is the amount of enzyme that transforms 1 μ mol of substrate per minute, in standard conditions. The concentration is expressed in units per litre of sample (U/L).

Temperature conversion factors

To correct results to other temperatures multiply by:

Assay temperature	Conversion factor to		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.22	1.64
30°C	0.82	1.00	1.33
37°C	0.61	0.75	1.00

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: CONTROL Normal and Pathologic (Ref. MO-165107 and MO-165108). If control values are found outside the defined range, check the instrument, reagents and technique for problems. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES¹

	25°C	30°C	37°C
Children (1-14 years)	< 400 U/L	< 480 U/L	< 645 U/L
Adults	60 - 170 U/L	73 - 207 U/L	98 - 279 U/L

Factors affecting ALP activities in a normal population include exercise, periods of repaid growth in children and pregnancy. These values are for orientation purpose; each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Measuring range: From detection limit of 0.6845 U/L to linearity limit of 1200 U/L. If the results obtained were greater than linearity limit, dilute the sample 1/10 with NaCl 9 g/L and multiply the result by 10.

Precision:

	Intra-assay (n=20)		Inter-assay (n=20)	
	Mean (U/L)	SD	Mean	SD
Mean (U/L)	174	443	175	434
SD	0.72	1.56	6.88	11.93
CV (%)	0.41	0.35	3.93	2.75

Sensitivity: 1 U/L = 0,0003 ΔA /min.

Accuracy: Results obtained using MonlabTest reagents (y) did not show systematic differences when compared with other commercial reagents (x). The results obtained using 50 samples were the following:

Correlation coefficient (r)²: 0.99938.

Regression equation: $y = 1.025x - 1.105$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Fluoride, oxalate, citrate and EDTA inhibit alkaline phosphatase activity and should therefore not be used as anticoagulants. Haemolyses interferes due to the high concentration of alkaline phosphatase in red cells^{1,2}. A list of drugs and other interfering substances with acid phosphatase determination has been reported^{3,4}.

NOTES

MONLAB has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

BIBLIOGRAPHY

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PACKAGING

MO-165065	MO-165066	MO-165217
R1: 1 x 60 mL	R1: 1 x 240 mL	R1: 4 x 100 mL
R2: 1 x 15 mL	R2: 1 x 60 mL	R2: 1 x 100 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by