

# Alkaline phosphatase

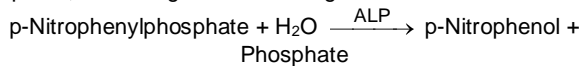
p-Nitrophenylphosphate. kinetic. Liquid. DGKC

## Quantitative determination of alkaline phosphatase (ALP) IVD

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<sup>1,2</sup>.

### 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<sup>1,5,6</sup>.

Clinical diagnosis should not be made on a single test result; it should integrate clinical and other laboratory data.

### REAGENTS

<b>R 1</b> Buffer	Diethanolamine (DEA) pH 10.4 Magnesium chloride	1 mmol/L 0.5 mmol/L
<b>R 2</b> Substrate	p-Nitrophenylphosphate (pNPP)	10 mmol/L
<b>Optional</b>	SPINTRAL H CAL	

### PREPARATION

DUAL MODE: Ready to use.

MONO MODE: Pour reagent 2 content over reagent 1. Mix thoroughly avoiding foam forming and it will be ready to use (WR). Working reagent (WR) stability: 1 month at 2-8°C or 10 days at 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  $\geq 1.30$ .

### ADDITIONAL EQUIPMENT

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

### SAMPLES

Serum or heparinized plasma<sup>1</sup>. Use unhemolyzed serum, separated from the clot as soon as possible. Stability : 3 days at 2-8°C.

### 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<sup>1,2</sup>.

A list of drugs and other interfering substances with acid phosphatase determination has been reported<sup>3,4</sup>.

## APPLICATION SPINLAB 180

Name	ALP	Ref. male low	98
Abbr. Name	ALP	Ref. male high	279
Mode	Kinetic	Ref. female low	98
Wavelength	405 nm	Ref. female high	279
Units	U/L	Ref. Ped. Low	*
Decimals	0	Ref. Ped. High	*
Low Conc.	4 U/L	Panic value low	*
High Conc.	825 U/L	Panic value high	*
Calibrator name	CAL	Control 1	*
Prozone check	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Correlat. factor	1.000
		Correlat. offset	0.000
<b>DUAL MODE</b>		<b>MONO MODE</b>	
Sample blank	No	Sample blank	No
R1 bottle (mL)	25 mL	R1 bottle (mL)	25 mL
normal volume	312 $\mu\text{L}$	normal volume	390 $\mu\text{L}$
rerun volume	312 $\mu\text{L}$	rerun volume	390 $\mu\text{L}$
Sample		Sample	
normal volume	6.5 $\mu\text{L}$	normal volume	6.5 $\mu\text{L}$
rerun volume	6 $\mu\text{L}$	rerun volume	6 $\mu\text{L}$
R2 bottle (mL)	5 mL		
normal volume	78 $\mu\text{L}$		
rerun volume	78 $\mu\text{L}$		
Predilución	No		
Slope blank	No		
Delay, min. time	24.212 sec.	Delay, min. time	24.212 sec.
Linearity limit	10.0 %	Linearity limit	10.0 %
Factor		Factor	
Reagent blank	No	Reagent blank	No
Low Absorbance	-0.100 Abs	Low Absorbance	-0.100 Abs
High Absorbance	3.000 Abs	High Absorbance	3.000 Abs
R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs	R. Abs. L. Limit	-0.100 Abs
R. Abs. H. Limit	3.000 Abs	R. Abs. H. Limit	3.000 Abs
R. Abs. Deviation	3.000 Abs	R. Abs. Deviation	3.000 Abs

### QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of assay procedures: SPINTRAL H Normal and Pathologic (Ref. 1002120 and 1002210).

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 VALUES<sup>1</sup>

	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.

### NOTES

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

### BIBLIOGRAPHY

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

### PACKAGING

Ref: SP41233

Cont.

R1: 10 x 20 mL

R2: 10 x 5 mL

# Fosfatasa alcalina

p-Nitrofenilfosfato. Cinético. Líquido. DGKC

## Determinación cuantitativa de fosfatasa alcalina (FAL) IVD

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<sup>1,2</sup>.

### 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<sup>1,5,6</sup>.

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

### REACTIVOS

<b>R 1</b>	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
Tampón	Cloruro de magnesio	0,5 mmol/L
<b>R 2</b>	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
Substrato		
<b>Opcional</b>	SPINTROL H CAL	

### PREPARACIÓN

MODO DUAL: Reactivos listos para el uso.

MODO MONO: Verter el contenido del reactivo 2 sobre el reactivo 1. Mezclar evitando la formación de espuma y quedará listo para usar (RT).

Estabilidad del reactivo de trabajo (RT): 1 mes a 2-8°C o 10 días a temperatura ambiente.

### 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.
- Absorbancias del Blanco a 405  $\geq$  1,30.

### MATERIAL ADICIONAL

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

### MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado<sup>1</sup>. Usar suero libre de hemólisis, separado de los hematíes lo antes posible.

Estabilidad: 3 días a 2-8°C.

### 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<sup>1,2</sup>. Se han descrito varias drogas y otras sustancias que interfieren en la determinación de la fosfatasa alcalina<sup>3,4</sup>.

### APLICACIÓN AL SPINLAB 180

Nombre	ALP	Ref. Hombre Inf.	98 U/L
Nombre abreviado	ALP	Ref. Hombre Sup.	279 U/L
Modo	Cinética	Ref. Mujer Inf.	98 U/L
Long. ondas	405 nm	Ref. Mujer Sup.	279 U/L
Unidades	U/L	Ref. Ped. Inf.	*
Decimales	0	Ref. Ped. Sup.	*
Conc. Inferior	4 U/L	Valor pánico bajo	*
Conc. Superior	825 U/L	Valor pánico alto	*
Calibrador	CAL	Control 1	*
Chequeo prozona	No	Control 2	*
		Control 3	*
		Factor correl.	1.000
		Offset de correl.	0.000
<b>MODO DUAL</b>		<b>MODO MONO</b>	
Blanco muestra	No	Blanco muestra	No
Frasco R1 (mL)	25 mL	Frasco R1 (mL)	25 mL
Vol. normal	312 $\mu$ L	Vol. normal	390 $\mu$ L
Vol. repet.	312 $\mu$ L	Vol. repet.	390 $\mu$ L
Muestra		Muestra	
Vol. normal	6,5 $\mu$ L	Vol. normal	6,5 $\mu$ L
Vol. repet.	6 $\mu$ L	Vol. repet.	6 $\mu$ L
Frasco R2 (mL)	5 mL		
Vol. normal	78 $\mu$ L		
Vol. repet.	78 $\mu$ L		
Predilución	No		
Pendiente Blco.	No		
Retr., tiempo min.	24.212 sec.	Retr., tiempo min.	24. 212 sec.
Lim. Linealidad	10%	Lim. Linealidad	10 %
Factor		Factor	
Blanco reactivo	No	Blanco reactivo	No
Absorbancia inf.	-0.100 Abs	Absorbancia inf.	-0.100 Abs
Absorbancia sup.	3.000 Abs	Absorbancia sup.	3.000 Abs
Lim.Inf. Abs. React.	-0.100 Abs	LimInf. Abs. React.	-0.100 Abs
Lim.Sup. Abs. React.	3.000 Abs	LimSup. Abs. React.	3.000 Abs
Desv. Abs. React.	3.000 Abs	Desv. Abs. React.	3.000 Abs

### CONTROL DE CALIDAD

Es conveniente analizar junto con las muestras sueros control valorados:

SPINTROL H Normal y Patológico (Ref. 1002120 y 1002210).

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 REFERENCIA<sup>1</sup>

	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.

### NOTAS

**SPINREACT dispone de instrucciones detalladas para la aplicación de este reactivo en distintos analizadores.**

### BIBLIOGRAFÍA

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

### PRESENTACIÓN

Ref: SP41233	Cont.	R1:	10 x 20 mL
		R2:	10 x 5 mL