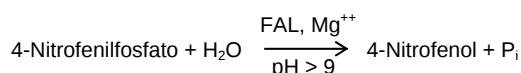


ALKALINE PHOSPHATASE BR

REF 1103005 2 x 50 mL CONTENIDO R1.Reactivo 2 x 40 mL R2.Reactivo 1 x 20 mL	REF 1103010 3 x 100 mL CONTENIDO R1.Reactivo 3 x 80 mL R2.Reactivo 1 x 60 mL	FOSFATASA ALCALINA BR DGKC <i>Método colorimétrico</i> CINETICO
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>		

FUNDAMENTO

Las fosfatasas alcalinas (FAL) catalizan la hidrólisis del 4-nitrofenilfosfato (4-NFF) formando 4-nitrofenol y fosfato inorgánico, actuando el tampón alcalino como aceptor del grupo fosfato. La reacción se controla cinéticamente a 405 nm a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, proporcional a la actividad FAL presente en la muestra.



Este test ha sido formulado de acuerdo a los métodos estandarizados descritos por la DGKC.¹

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

R1 FAL tampón. Tampón DEA 1,25 mol/L pH 10,2, cloruro de magnesio 0,6 mmol/L. Biocidas.

R2 FAL sustrato. 4-NFF 50 mmol/L. Biocidas.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

 Conservar a 2-8°C.

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Mantener los frascos cerrados, protegidos de la luz y evitar la contaminación durante su uso.

Descartar si se observan signos de deterioro:

- Presencia de partículas y turbidez.
- Absorbancia del Blanco (A) a 405 nm > 1,000 en cubeta de 1 cm.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo. Mezclar 4 mL de **R1** + 1 mL de **R2**. Estable 5 días a 20-25°C ó 15-30 días a 2-8°C, en función de la caducidad remanente de ambos reactivos. Resguardar de la luz.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado libre de hemólisis. Otros anticoagulantes como el EDTA, oxalato y citrato no deben emplearse por quelar el ión Mg^{2+} inhibiendo la actividad enzimática. Las fosfatasas alcalinas séricas o plasmáticas son estables 7 días a 2-8°C.

INTERFERENCIAS

- Lipemia (intralipid 20 g/L) no interfiere.
- Bilirrubina (20 mg/dL) no interfiere.
- Hemoglobina (>2 g/L) puede afectar los resultados.
- Otros medicamentos y sustancias pueden interferir^{2,3}.

EQUIPO ADICIONAL

- Fotómetro o colorímetro con compartimiento de medición termostatado a 25/30/37°C, para leer a 405 nm.
- Cronómetro, registrador gráfico o impresora.
- Cubetas de 1-cm de paso de luz.
- Pipetas de volumen variable para reactivos y muestras.

TECNICA

1. Preincubar el reactivo de trabajo, muestras y controles a la temperatura de reacción.
2. Ajustar a 0 el fotómetro con agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

Reactivo de trabajo	1,0 mL
Muestra o control	20 µL

4. Mezclar suavemente por inversión. Insertar la cubeta en el compartimiento termostatado del instrumento y poner el cronómetro en marcha.
5. Incubar durante 1 minuto y anotar la absorbancia inicial.
6. Repetir las lecturas exactamente a los 1,2 y 3 minutos.
7. Calcular la diferencia entre absorbancias.
8. Calcular el promedio de los resultados para obtener el cambio promedio en absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULOS

$$\text{U/L} = \Delta A/\text{min} \times 2764$$

Muestras con $\Delta A/\text{min}$ superiores a 0,250 a 405 nm deben diluirse 1:2 con solución salina y repetir el ensayo. Multiplicar los resultados por 2.

Para expresar los resultados en unidades SI aplicar:

$$\text{U/L} \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$$

VALORES DE REFERENCIA³

Suero, plasma

	25°C
Niños, hasta	480 U/L (8,0 µkat/L)
Adultos, hasta	180 U/L (3,0 µkat/L)
	30°C
Niños, hasta	590 U/L (9,8 µkat/L)
Adultos, hasta	220 U/L (3,7 µkat/L)
	37°C
Niños, hasta	800 U/L (13,3 µkat/L)
Adultos, hasta	270 U/L (4,5 µkat/L)

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se incluirán en cada serie controles valorados (normales y elevados) que se tratarán como muestras problema.

REF 1980005 HUMAN MULTISERA NORMAL
Valorado. Nivel normal de fosfatasa alcalina.

REF 1985005 HUMAN MULTISERA ABNORMAL
Valorado. Nivel elevado de fosfatasa alcalina.

Si los resultados obtenidos se encuentran fuera del rango de tolerancia, revisar el instrumento, los reactivos y la técnica usada. Cada laboratorio debe establecer su propio Control de Calidad y sus medidas correctoras cuando los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

SIGNIFICADO CLINICO

Las determinaciones de fosfatasas alcalinas séricas son de particular interés en la investigación de dos grupos de estados: la *enfermedad ósea* y la *hepatobiliar*.

Entre las enfermedades óseas los niveles más altos se hallan en la enfermedad de Paget y en pacientes con cáncer óseo osteogénico. Aumentos moderados se detectan en la osteomielia y en el raquitismo, recuperando en éste último caso la normalidad tras el tratamiento con vitamina D.

El crecimiento óseo fisiológico eleva la tasa de fosfatasa alcalina sérica en el período de crecimiento infantil, observándose elevaciones transitorias en la fase de curación de las fracturas óseas. Las causas de descenso del nivel de fosfatasas plasmáticas son: cretinismo, déficit de vitamina D e hipofosfatasa, una enfermedad ósea hereditaria.

La respuesta del hígado a cualquier forma de obstrucción del árbol biliar es la de sintetizar más fosfatasa alcalina. La obstrucción intra-hepática del flujo biliar por invasión cancerosa o por drogas aumenta la fosfatasa sérica. Cualquier droga que sea hepatotóxica o que introduzca una colestasis ocasionará un gran aumento de la actividad. Se hallan descritas más de 200 drogas causantes de un aumento sérico de las fosfatasas en pacientes.⁴

NOTAS

1. Este ensayo permite ser adaptado a distintos instrumentos automáticos. Cualquier adaptación a un instrumento deberá ser validada con el fin de demostrar que se cumplen las características analíticas del método. Se recomienda validar periódicamente el instrumento. Consultar con su distribuidor para cualquier dificultad en la adaptación del método.
2. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

CARACTERISTICAS ANALITICAS

- **Límite detección:** 14,35 U/L

- **Linealidad:** Hasta 800 U/L

- **Precisión**

U/L	Intraserial		Interserial	
Media	313	490	313	490
DE	1,45	11,7	10,23	12,47
CV%	0,46	2,32	3,27	2,54
N	10	10	10	10

- **Sensibilidad :** 0,3 mA / U/L fosfatasa.

- **Correlación:** Este ensayo (y) fue comparado con un método comercial similar (x). Los resultados fueron los siguientes:

$$N = 50 \quad r = 0,98 \quad y = 1,11x - 9,19$$

Las características analíticas han sido generadas usando un instrumento automático. Los resultados pueden variar según el instrumento utilizado.

REFERENCIAS

1. German Society for Clinical Chemistry: Recommendations of the Enzyme Commission. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 10 : 281 (1972).
2. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 4th Edition. AACC Press (1995).
3. Tietz. N.W. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd Edition. W.B. Saunders Co. Philadelphia, PA. (1995).
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.