

## FOSFATASA ALCALINA

Reactivo para la determinación enzimática / cinética de Fosfatasa Alcalina en suero. AMP BUFFER, I.F.C.C.



IVD

REF	Código	Presentación
	05863	30 mL
07687	60 mL	
07688	120 mL	

### PRINCIPIO

La Fosfatasa Alcalina en suero es determinada midiendo la velocidad de hidrólisis de varios esteres de fosfato bajo condiciones específicas. El p-nitrofenilfosfato (p-NPP) es uno de estos esteres de fosfatos y fue introducido como sustrato por Fujita en 1939<sup>1</sup>. La fosfatasa alcalina del suero en un pH alcalino hidroliza el p-nitrofenilfosfato (p-NPP) liberando p-nitrofenol y fosfato inorgánico según la siguiente reacción:



La velocidad a la cual el p-NPP es hidrolizado, medido a 405nm, es directamente proporcional a la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina de la muestra.

### SIGNIFICADO CLÍNICO

Las fosfatasas alcalinas son enzimas que se encuentran presentes en casi todos los tejidos del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón. Tanto el aumento como su disminución en plasma tienen significado clínico. Las causas de un aumento de ALP: Enfermedad ósea de Paget, obstrucciones hepáticas, hepatitis, hepatotoxicidad por medicamentos y osteomalacia. Las causas de una disminución de FAL: Cretinismo y déficit de vitamina C.

### CONTENIDOS

**R 1** **BUFFER**  
Tampon pH 10,4 (AMP), I.F.C.C., EDTA, Zinc Sulfato, Magnesio Acetato, Azida sódica

**R 2** **SUSTRATO p-NPP**  
p-nitrofenilfosfato, fenol

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS



Mezclar en la proporción de **5 (cinco) volúmenes de R1 BUFFER y 1 (un) volumen de R2 SUBSTRATO**. (Ejemplo: 2,5 mL R1 Buffer con 0,5 mL R2 Substrato).

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El reactivo de trabajo es estable 5 días entre 15-25 ° C y 30 días entre 2-8°C, cuando no haya contaminación química o bacteriana. No usar el reactivo de trabajo cuando la absorbancia medida contra agua destilada a 405 nm, sea mayor que 1.000 o cuando este turbio o con señales de contaminación

### PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Conservado entre 2°C y 8°C y protegido de la luz, estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Los reactivos contienen menos del 0,1% de azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con tuberías de cobre y plomo formando compuestos explosivos. Las regulaciones locales para el desecho de compuestos peligrosos deben ser respetadas, descartar con abundante agua.

### MATERIALES ADICIONALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro de filtros capaz de medir absorbancia a 405 nm con cubeta termostatzada (25°C, 30°C o 37°C)
- Pipetas automáticas.
- Cronometro y/o timer.

### MUESTRAS

La muestra a utilizar debe ser suero no hemolizado (plasma no debe ser utilizado debido a que los anticoagulantes comunes (EDTA di sódico, Oxalato, Citrato o Fluoruro) producen entre 50% y 90% de inhibición de la actividad de la fosfatasa alcalina.

Emplear el suero preferentemente fresco, en caso de no realizarse el ensayo dentro de las 6 horas posteriores a su obtención, la muestra debe conservarse congelada (-4°C) ya que a temperatura ambiente o en refrigerador (2 -10°C) se observan aumentos de actividad de fosfatasa alcalina del 5 al 30% en 24 horas.

### PROCEDIMIENTO

Llevar el reactivo y la muestra a la temperatura a que se realizará el ensayo. Las pipetas a utilizar deben estar limpias y libres de residuos para no contaminar el reactivo.

Longitud de onda: **405nm**  
Paso de Luz: **1 cm**  
Temperatura: **37°C**  
Medición: **Contra agua (Aumento Absorbancia)**

Pipetear en cubetas	
Reactivo de Trabajo	<b>1000 µL</b>
Incube el reactivo de trabajo por 2 minutos a 37°C	
Muestra	<b>25 µL</b>
Mezclar, esperar 1 minuto. Leer la absorbancia A <sub>1</sub> y al mismo tiempo activar el cronometro. Leer nuevamente la absorbancia exactamente después de 2 minutos (A <sub>2</sub> ).	
<b>Cálculos</b>	
$\Delta \text{ Absorbancia / minuto} = \frac{A_2 - A_1}{2}$	
FOSFATASA ALCALINA (U/L) = $\Delta \text{ Absorbancia / minuto} \times \text{Factor}$	
<b>Factor a 37°C</b>	405 nm
	<b>2187</b>

\*Adaptaciones disponibles para analizadores automatizados **RAYTO**® Chemray 120, Chemray 240, Chemray 420.

### VALORES DE REFERENCIA:

Estos valores deben ser usados únicamente de forma orientativa, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia en la población atendida.

Valores de referencia habituales a 37°C:

Adultos (U/L): **30 - 128**  
Niños (U/L): **75 - 390** (Hasta 16 años)

### CONTROL DE CALIDAD

Pueden ser empleados todos los sueros con valores de Fosfatasa Alcalina determinados por este método. Nosotros recomendamos el uso de nuestro suero **IHR Diagnóstica** para verificar la funcionalidad del procedimiento de medida.

Cada laboratorio debe establecer su propio programa de control de calidad interno, así como procedimientos de corrección en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias aceptables.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

#### LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 800 U/L. Para valores superiores, diluir la muestra con suero fisiológico y el resultado obtenido se multiplica por el factor de dilución.

#### REPETITIVIDAD

Concentración media	DE	CV	n
94 U/L	1,93	2,1%	10
319 U/L	1,26	1,3%	10

#### REPRODUCIBILIDAD

Concentración media	DE	CV	n
95 U/L	1,26	1,3%	10
315 U/L	3,26	1,2%	10

#### LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección fotométrica hallado fue 2,4 U/L

#### CORRELACIÓN

Análisis de la regresión lineal obtenidas con muestras de suero, analizados con el presente método y otro método cinético comercialmente disponible se halló un coeficiente de correlación ( r ) igual a 0,981 con una ecuación de regresión lineal de  $y=1.2c + 4.5$  (n=95, rango=35 - 375).

#### INTERFERENCIAS

Valores de Bilirrubina hasta 32 mg/dL, Hemoglobina hasta 100 mg/dL, no producen interferencias significativas. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir<sup>4</sup>

### BIBLIOGRAFÍA

- Fujita, H. J. Biochem (Japan) 30:69 (1969)
- Henry, R.J. Clinical Chemistry, Principles and Technics. Harper and Row Publisher. New York, 1964.
- I.F.C.C. – Clin Chem. Acta 87/3 459F, 1978
- Young D.S., et al., Clin Chem. 18(10) 1972.
- Young D.S. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 4<sup>th</sup> Ed AACCC, 1995

Índice de Símbolos					
	Producto para diagnóstico in-vitro		Referencia o Código		Pruebas por Kit
	Para usar consulte las instrucciones		Precaución Consultar las instrucciones		Fabricante
	Número de Lote		Fecha de Caducidad		Fecha de Fabricación
	Límite de Temperatura		Riesgo Biológico		



**ESPECIALIDADES**  
**Diagnósticas IHR**

Calle 8 No. 39 86 Cali - Colombia  
PBX: **+(2) 3989788**  
e-mail: [servicioalcliente@ihrdiagnostica.com](mailto:servicioalcliente@ihrdiagnostica.com)  
[www.ihrdiagnostica.com](http://www.ihrdiagnostica.com)