

COD 11592 50 mL	COD 11593 200 mL	COD 11598 500 mL
CONSERVAR A 2-8°C		
Reactivos para medir la concentración de FAL Sólo para uso <i>in vitro</i> en el laboratorio clínico		

## ALKALINE PHOSPHATASE (ALP) - AMP



## FOSFATASA ALCALINA (FAL) - AMP TAMPÓN 2-AMINO-2-METIL-1-PROPANOL (IFCC)

### FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La fosfatasa alcalina (FAL) cataliza en medio alcalino la transferencia del grupo fosfato del 4-nitrofenilfosfato al 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP), liberando 4-nitrofenol. La concentración catalítica se determina a partir de la velocidad de formación del 4-nitrofenol, medido a 405 nm<sup>1</sup>.



### CONTENIDO

	COD 11592	COD 11593	COD 11598
A. Reactivo	1 x 40 mL	1 x 160 mL	4 x 100 mL
B. Reactivo	1 x 10 mL	1 x 40 mL	2 x 50 mL

### COMPOSICIÓN

A. Reactivo: 2-Amino-2-metil-1-propanol 0,4 mol/L, sulfato de zinc 1,2 mmol/L, ácido N-hidroxietil-etilendiaminotriacético 2,5 mmol/L, acetato de magnesio 2,5 mmol/L, pH 10,4.

B. Reactivo: 4-Nitrofenilfosfato 60 mmol/L.

### CONSERVACIÓN

Conservar a 2-8°C.

Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta, siempre que se conserven bien cerrados y se evite la contaminación durante su uso.

Indicaciones de deterioro:

- Reactivos: Presencia de partículas, turbidez, absorbancia del blanco superior a 1,200 a 405 nm (cubeta de 1 cm).

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo:

- Cod. 11592 y 11593: Vaciar el contenido del frasco B en el frasco A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 2 meses a 2-8°C.
- Cod. 11598: Vaciar 25 mL del frasco B en el frasco A. Agitar suavemente. Si se desea preparar otros volúmenes, mezclar en la proporción: 4 mL de Reactivo A + 1 mL de Reactivo B. Estable 2 meses a 2-8°C.

### EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 25, 30 ó 37°C para lecturas a 405 nm.
- Cubetas de 1 cm de paso de luz.

### MUESTRAS

Suero o plasma recogido mediante procedimientos estándar.

La fosfatasa alcalina en suero o plasma es estable 7 días a 2-8°C. Puede utilizarse heparina como anticoagulante.

### PROCEDIMIENTO

- Precalentar el Reactivo de Trabajo y el instrumento a la temperatura de reacción.
- Pipetear en una cubeta: (Nota 1)

Reactivo de Trabajo	1,0 mL
Muestra	20 µL

- Mezclar e insertar la cubeta en el fotómetro. Poner el cronómetro en marcha.
- Anotar la absorbancia inicial y efectuar nuevas lecturas cada minuto durante 3 minutos.
- Calcular el incremento de absorbancia por minuto promedio ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### CÁLCULOS

La concentración de FAL en la muestra se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\Delta A/\text{min} \times \frac{V_t \times 10^6}{\epsilon \times l \times V_s} = \text{U/L}$$

El coeficiente de absorción molar ( $\epsilon$ ) del 4-nitrofenol a 405 nm es 18.450, el paso de luz ( $l$ ) es 1 cm, el volumen total de reacción ( $V_t$ ) es 1,02, el volumen de muestra ( $V_s$ ) es 0,02, y 1 U/L equivale a 0,0166  $\mu\text{kat/L}$ . Se deducen los siguientes factores para calcular la concentración catalítica:

$\Delta A/\text{min}$	$\times 2764 = \text{U/L}$ $\times 46,08 = \mu\text{kat/L}$
-----------------------	--

### VALORES DE REFERENCIA

Temperatura de reacción	hombres	mujeres
25°C, hasta	75 U/L = 1,25 $\mu\text{Kat/L}$	68 U/L = 1,13 $\mu\text{Kat/L}$
30°C, hasta <sup>2</sup>	87 U/L = 1,45 $\mu\text{Kat/L}$	80 U/L = 1,33 $\mu\text{Kat/L}$
37°C, hasta <sup>2</sup>	115 U/L = 1,92 $\mu\text{Kat/L}$	105 U/L = 1,75 $\mu\text{Kat/L}$

Los valores a 25°C se han obtenido a partir de los de 30°C mediante un factor de conversión. Las concentraciones son más elevadas y muy variables en niños en edad de crecimiento. Estos valores se dan únicamente a título orientativo; es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios intervalos de referencia.

### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda el uso de los Sueros Control Bioquímica niveles I (cod. 18005, 18009 y 18042) y II (cod. 18007, 18010 y 18043), 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 METROLÓGICAS

- Límite de detección: 1,0 U/L = 0,017  $\mu\text{kat/L}$
- Límite de linealidad: 1200 U/L = 20  $\mu\text{kat/L}$ . Cuando se obtengan valores superiores, diluir la muestra 1/2 con agua destilada y repetir la medición.
- Repetibilidad (intra-serie):

Concentración media	CV	n
61 U/L = 1,02 $\mu\text{kat/L}$	1,0 %	20
244 U/L = 4,07 $\mu\text{kat/L}$	0,7 %	20

- Reproducibilidad (inter-serie):

Concentración media	CV	n
61 U/L = 1,02 $\mu\text{kat/L}$	3,4 %	25
244 U/L = 4,07 $\mu\text{kat/L}$	1,1 %	25

- Veracidad: Los resultados obtenidos con estos reactivos no muestran diferencias sistemáticas significativas al ser comparados con reactivos de referencia. Los detalles del estudio comparativo están disponibles bajo solicitud.
- Interferencias: La bilirrubina (< 20 mg/dL) y la lipemia (triglicéridos < 10 g/L) no interfieren. La hemoglobina (> 2,5 g/L) interfiere. Otros medicamentos y sustancias pueden interferir<sup>3</sup>.

Estos datos han sido obtenidos utilizando un analizador. Los resultados pueden variar al cambiar de instrumento o realizar el procedimiento manualmente.

### CARACTERÍSTICAS DIAGNÓSTICAS

La fosfatasa alcalina cataliza la hidrólisis de monoésteres de fosfato orgánicos a pH alcalino. La enzima se encuentra presente en casi todos los tejidos del organismo, ubicado en las membranas celulares, y se halla a concentraciones especialmente elevadas en placenta, epitelio intestinal, túbulos renales, osteoblastos y en el hígado.

La forma presente en suero de adulto normal procede principalmente de hígado y hueso.

Se encuentran concentraciones séricas elevadas de FAL en pacientes con enfermedades del hueso asociadas a actividad osteoblástica incrementada (enfermedad de Paget, hiperparatiroidismo primario y secundario, tumores óseos, raquitismo, osteomalacia, fracturas) y también en pacientes con alteraciones hepato biliares (ictericia obstructiva, hepatitis, hepatotoxicidad causada por medicamentos, cáncer de hígado). Cambios fisiológicos, como el crecimiento de los huesos y el embarazo, pueden causar incrementos en los niveles de FAL<sup>4,5</sup>.

El diagnóstico clínico no debe realizarse teniendo en cuenta el resultado de un único ensayo, sino que debe integrar los datos clínicos y de laboratorio.

### NOTAS

- Estos reactivos pueden utilizarse en la mayoría de analizadores automáticos. Solicite información a su distribuidor.

### BIBLIOGRAFÍA

- IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 9. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of alkaline phosphatase. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49:1439-1446.
- Rosalki SB, Foo AY, Burlina A, et al. Multicenter evaluation of iso-ALP test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin Chem* 1993; 39:648-652.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACC Press, 2001.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.