Fosfatasa alcalina FS *

IFCC mod. 37 °C

Reactivo para la determinación cuantitativa *In Vitro* de fosfatasa alcalina (FA) en suero o plasma en equipos fotométricos

Información de pedido

Nº de pedido	Tamaño del envase						
1 0441 99 10 021	R1	5 x	20 mL	+	R2	1 x	25 mL
1 0441 99 10 026	R1	5 x	80 mL	+	R2	1 x	100 mL
1 0441 99 10 023	R1	1 x	800 mL	+	R2	1 x	200 mL
1 0441 99 10 704	R1	8 x	50 mL	+	R2	8 x	12,5 mL
1 0441 99 10 917	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 0441 99 10 930	R1	4 x	20 mL	+	R2	2 x	10 mL
1 0441 99 10 190	R1	4 x	20 mL	+	R2	4 x	5 mL
1 0441 99 10 940	R1	8 x	60 mL	+	R2	8 x	15 mL
1 0441 99 90 314	R1	10 x	20 mL	+	R2	2 x	30 mL

Resumen [1,2]

La fosfatasa alcalina (FA), una enzima hidrolítica con una actividad máxima cuando el pH es alcalino, se encuentra en la sangre en diferentes formas, que proceden principalmente de los huesos y el hígado, pero también de otros tejidos como los riñones, la placenta, los testículos, el timo, los pulmones y los tumores. Se observa un aumento en la actividad fisiológica durante el crecimiento óseo en la infancia y el embarazo, mientras que el aumento de la actividad patológica está asociada especialmente a las enfermedades hepatobiliares y óseas. En las enfermedades hepatobiliares indican una oclusión del tracto biliar, como en la colestasia causada por cálculos biliares, tumores o infecciones. También se observa un aumento de los valores en las hepatitis infecciosas. En las enfermedades óseas, el aumento de la actividad de la FA es una consecuencia del aumento de la actividad osteoblástica, como por ejemplo en la enfermedad de Paget, la osteomalacia (raquitismo), las metástasis óseas y el hiperparatiroidismo.

Método

Test cinético y fotométrico de acuerdo con IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

Principio

p-nitrofenilfosfato + H_2O $\xrightarrow{FA}$ fosfato + p-nitrofenol

Reactivos

Componentes y concentraciones

R1:	2-amino-2-metil-1-propanol pH 10,4	1,1 mol/L
	Acetato de magnesio	2 mmol/L
	Sulfato de cinc	0,5 mmol/L
	HEDTA	2,5 mmol/L
R2:	p-nitrofenilfosfato	80 mmol/L

Conservación y estabilidad de los reactivos

Los reactivos se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C hasta el final del mes de caducidad indicado en el envase, siempre que se evite la contaminación una vez abiertos los frascos. No se deben congelar los reactivos. Protéjase el reactivo 2 de la luz directa.

Eliminación de residuos

Obsérvese la normativa legal al respecto.

Advertencias y medidas de precaución

1. Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como preservo. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
2. Durante la reacción se origina p-nitrofenol. Tóxico en caso de inhalación, ingestión o contacto con la piel. En caso de contacto de la piel o las mucosas con la mezcla de reactivo, lavar con agua abundante.
3. Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio.

Preparación de los reactivos

Procedimiento del substrato

Los reactivos ya están listos para usar.

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

Mezclar 4 partes de R1 + 1 parte de R2
(p. ej. 20 mL R1 + 5 mL R2) = reactivo de uso
Estabilidad al almacenamiento:

	4 semanas	de	2 a 8 °C
	5 días	de	15 a 25 °C

¡Protéjase el reactivo de uso de la luz directa!

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Muestras

Suero o plasma heparina
¡No deben utilizarse muestras hemolíticas!

Estabilidad al almacenamiento [6]:	7 días	de	20 a 25 °C
	7 días	de	4 a 8 °C
	2 meses	a	-20 °C

¡Desechar las muestras contaminadas!

Esquema de la prueba

Hay disponibles a petición aplicaciones para sistemas automáticos.

Longitud de onda	Hg 405 nm, (400 - 420 nm)
Paso óptico	1 cm
Temperatura	37 °C
Método de medida	Respecto blanco de reactivo

Procedimiento del substrato

	Blanco	**Muestra/ Calibrador**
Muestra/Calibrador	-	20 µL
Agua destilada	20 µL	-
Reactivo 1	1000 µL	1000 µL
Mezclar, incubar aprox. 1 min. y, a continuación, añadir:		
Reactivo 2	250 µL	250 µL
Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.		

*Fluid Stable = líquido estable

Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra

	Blanco	Muestra/ Calibrador
Muestra/Calibrador		20 µL
Agua destilada	20 µL	
Reactivo	1000 µL	1000 µL

Mezclar, leer la absorbancia al cabo de 1 min. y poner en marcha el cronómetro. Volver a leer la absorbancia al cabo de 1, 2 y 3 min.

Cálculo

Con factor

A partir de las absorbancias interpretadas se calcula ΔA/min. y se multiplica por el factor correspondiente según la siguiente tabla:

ΔA/min x factor = actividad FA [U/l]

Procedimiento del substrato	405 nm	3433
Procedimiento de medida con reactivo de uso y muestra	405 nm	2757

Con calibrador

$$\text{ALP } [U/L] = \frac{\Delta A/\text{min Muestra}}{\Delta A/\text{min Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador } [U/L]$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda el calibrador DiaSys TruCal U. Para el control de calidad interno deben medirse los controles DiaSys TruLab N y P con cada serie de muestras.

	Nº de pedido	Tamaño del envase
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Características

Rango de medida

El test es adecuado para medir actividades de FA que, como máximo, correspondan a un ΔA/min de 0,25.
Si se sobrepasa este valor, se recomienda diluir las muestras en una proporción 1+9 con solución de NaCl (9 g/L) y multiplicar por 10 el resultado.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascorbínico en cantidades de hasta 30 mg/dL, con bilirrubina conjugada en cantidades de hasta 60 mg/dL, con bilirrubina no conjugada en cantidades de hasta 25 mg/dL, hemoglobina hasta 100 mg/dL y con lipidemia hasta 2000 mg/dL de triglicéridos.

Sensibilidad del test/límite de prueba

El límite inferior de prueba es de 2 U/L.

Precisión

En la serie n = 20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	68,6	0,58	0,85
Muestra 2	107	0,71	0,67
Muestra 3	243	0,97	0,40

En la serie n = 20	Valor medio (VM) [U/L]	Desviación estándar [U/L]	Coeficiente de variación (CV) [%]
Muestra 1	69,2	1,37	1,99
Muestra 2	104	1,22	1,08
Muestra 3	238	2,40	1,01

Comparación de métodos

En la comparación de DiaSys Fosfatasa alcalina FS (y) con otro test comercial (x) se obtuvieron los siguientes resultados con 104 muestras:
y = 1,01 x - 1,51 U/L; r = 0,999.

Valores de referencia

Adultos [4]

Mujeres 20 - 50 años	[U/L]	42 - 98
Hombres 20 - 50 años	[U/L]	53 - 128
Mujeres > 60 años	[U/L]	53 – 141
Hombres > 60 años	[U/L]	56 - 119

Niños [5]

		sexo femenino	sexo masculino
1 – 30 días	[U/L]	48 – 406	75 – 316
1 mes – 1 año	[U/L]	124 – 341	82 – 383
1- 3 años	[U/L]	108 - 317	104 – 345
4 - 6 años	[U/L]	96 – 297	93 – 309
7 - 9 años	[U/L]	69 – 325	86 – 315
10 -12 años	[U/L]	51 – 332	42 – 362
13 -15 años	[U/L]	50 – 162	74 – 390
16 -18 años	[U/L]	47 - 119	52 - 171

Cada laboratorio debería comprobar la adecuación de los valores de referencia de sus propios grupos de pacientes y, dado el caso, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. pp. 36-46.
2. Moss DW, Henderson AR. Clinical enzymology. En: Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W.B Saunders Company; 1999. pp. 617-721.
3. Tietz NW, Rinker D, Shaw LM. IFCC methods for the measurement of catalytic concentrations of enzymes. Part 5: IFCC method for alkaline phosphatase. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:731-48.
4. Burtis CA, Ashwood ER, editores. Tietz textbook of clinical chemistry. 3ª ed., Filadelfia: W. B. Saunders Company, 1999. p. 1829.
5. Soldin JS, Brugnara C., Wong CE. In: MJ Hicks, editor. Pediatric reference intervals. 6th ed. Washington: AACC Press, 2007. p. 11.
6. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 14-5.

Fabricado por

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania