

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 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 según la IFCC (International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine).

Principio

p-nitrofenilfosfato + H₂O \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.

Equipo adicional necesario

Solución de NaCl 9 g/L
Equipo usual de laboratorio

Advertencias y medidas de precaución

- Los reactivos contienen azida de sodio (0,95 g/L) como conservante. No ingerir. Evitar el contacto con la piel y las mucosas.
- 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.
- Excepcionalmente pueden obtenerse valores erróneos en muestras de pacientes con gammopatías [9].
- Consultar las fichas de seguridad de los reactivos y observar todas las medidas de precaución necesarias para la manipulación de reactivos de laboratorio. Para un correcto diagnóstico, se recomienda evaluar los resultados según la historia médica del paciente, los exámenes clínicos así como los resultados obtenidos con otros parámetros.
- ¡Únicamente para el empleo profesional!

Preparación de los reactivos

Procedimiento del sustrato

Los reactivos son 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!

Muestras

Suero o plasma heparina

¡No deben utilizarse muestras hemolíticas!

Estabilidad al

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

¡Congelar sólo una vez!

¡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 sustrato

	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.		

Procedimiento de medida con reactivo de uso y con 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 $\Delta A/\text{min.}$ y se multiplica por el factor correspondiente según la siguiente tabla:

 $\Delta A/\text{min} \times \text{factor} = \text{actividad FA [U/L]}$

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

Con calibrador

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

Factor de conversión

$$\text{FA [U/L]} \times 0,0167 = \text{FA [\mu\text{kat/L}]}$$

Calibradores y Controles

Para la calibración de sistemas fotométricos automatizados se recomienda utilizar el calibrador DiaSys TruCal U. Este método es trazable al coeficiente de absorbancia molar. Para el control de calidad interno deben utilizarse los controles DiaSys TruLab N y P. Cada laboratorio debería establecer medidas correctoras en caso de obtener valores fuera del intervalo preestablecido.

	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**

En equipos automatizados, el test sirve para determinar actividades de FA hasta 1400 U/L.

En caso de un procedimiento manual, el test es apropiado para medir actividades de FA que correspondan a un máximo de $\Delta A/\text{min}$ de 0,25.

Si tal valor es excedido la muestra debería ser diluida 1 + 9 con solución de NaCl (9 g/L) y los resultados multiplicados por 10.

Especificidad/Interferencias

No aparecen interferencias con ácido ascórbico 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. Para más información sobre interferencias, véase Young DS [5].

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]	Coefficiente 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]	Coefficiente 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:

$$y = 1,01 x - 1,51 \text{ U/L}; r = 0,999$$

Valores de referencia**Adultos [6]**

Mujeres	35 – 104 [U/L]	0,58 – 1,74 $\mu\text{kat/L}$
Hombres	40 – 129 [U/L]	0,67 – 2,15 $\mu\text{kat/L}$

Adultos [7]

Mujeres	35 – 105 [U/L]	0,58 – 1,75 $\mu\text{kat/L}$
Hombres	40 – 130 [U/L]	0,67 – 2,17 $\mu\text{kat/L}$

Niños [8]

	femenino [U/L]	masculino [U/L]	femenino [$\mu\text{kat/L}$]	masculino [$\mu\text{kat/L}$]
1 - 30 día(s)	48 – 406	75 – 316	0,80 – 6,77	1,25 – 5,27
1 mes - 1 año	124 – 341	82 – 383	2,07 – 5,68	1,37 – 6,38
1 - 3 año(s)	108 – 317	104 – 345	1,80 – 5,28	1,73 – 5,75
4 - 6 años	96 – 297	93 – 309	1,60 – 4,95	1,55 – 5,15
7 - 9 años	69 – 325	86 – 315	1,15 – 5,42	1,43 – 5,25
10 - 12 años	51 – 332	42 – 362	0,85 – 5,53	0,70 – 6,03
13 - 15 años	50 – 162	74 – 390	0,83 – 2,70	1,23 – 6,50
16 - 18 años	47 – 119	52 – 171	0,78 – 1,98	0,87 – 2,85

Cada laboratorio debe comprobar si los valores de referencia indicados son adecuados para sus pacientes y si es necesario, determinar sus propios valores de referencia.

Bibliografía

- Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1ª ed., Francfort: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. pp. 36-46.
- 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.
- 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(9)
- Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001; p. 14-5.
- Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
- Abicht K et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37 °C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001; 39 (Suppl.): S346 [abstract].
- Thomas L, Müller M, Schumann G, Weidemann G et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- Soldin JS, Brugnara C., Wong CE. In: MJ Hicks, editor. Pediatric reference intervals. 6th ed. Washington: AACC Press, 2007. p. 11.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.

Fabricado por

DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim Alemania